

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

L'ÉPIDÉMIE DU CHOLÉRA DANS L'ARMÉE POLONAISE EN 1920-1921

par S. MUTERMILCH.

L'épidémie de choléra, qui a fait son apparition dans l'armée polonaise en octobre 1920 et ne s'est éteinte qu'en avril 1921, s'est répandue surtout parmi les prisonniers de guerre de l'armée rouge, ne faisant que peu de victimes parmi les soldats polonais et ne touchant qu'à peine la population civile.

Cette épidémie n'a pris nulle part le caractère d'une pandémie, au contraire, elle s'est limitée à quelques foyers peu nombreux, où elle explosait avec une grande intensité, puis s'éteignait, en se transportant dans quelques cas sur une distance plus ou moins grande.

Le choléra a envahi la Pologne en venant de la Russie, où cette maladie se trouve en état endémique depuis de longues années, en augmentant d'intensité de temps en temps, ce qui est arrivé notamment plusieurs fois pendant la grande guerre.

L'avant-dernière apparition du choléra a eu lieu en Pologne en 1919, mais elle s'était limitée alors à trois cas, ayant été immédiatement enrayée.

L'épidémie a pris une tournure différente en 1920, où le choléra a fait un grand nombre de victimes et a menacé de se répandre dans la population civile. La cause de ce phéno-

mène s'explique aisément par les conditions dans lesquelles s'est trouvée l'armée polonaise en 1920 en comparaison de celles de l'année 1919. En effet, si la Pologne a passé ces deux années en guerre avec la Russie des Soviets, les conditions de l'existence de l'armée polonaise en 1920 différaient totalement de celles de l'année précédente, car le front polono-bolchevick en 1919 était assez rigide, les rencontres entre les deux armées se sont déroulées sur une distance en profondeur relativement faible, la quantité d'ennemis faits prisonniers était insignifiante, en un mot, le contact du soldat polonais avec le soldat bolchevick était limité. La guerre de 1920 avait un caractère tout à fait différent : on avait affaire dans ce cas à de grands mouvements de troupes, la vague bolchevick a inondé une grande partie de la Pologne, ensuite, sous le poids de la contre-offensive polonaise, elle s'est retirée sur une distance de plusieurs centaines de kilomètres, en laissant dans les mains des Polonais près de 100.000 prisonniers ; ces grands mouvements de troupes ont été accompagnés d'un non moins intense mouvement de fuyards civils et d'une dévastation terrible du pays à laquelle s'ajoutaient la famine et l'épuisement extrême aussi bien de l'armée que de la population civile.

Tous ces facteurs ont joué leur rôle épidémiologique ; mais le contact direct du soldat polonais avec le soldat rouge fut la raison principale de l'apparition du choléra en Pologne.

Le fait que les premiers cas de choléra en Pologne ont été constatés parmi les prisonniers de guerre, et que l'épidémie s'est répandue surtout parmi ces derniers, prouve suffisamment que là était la source de l'épidémie.

Il ne sera fait mention dans ce mémoire que des cas de choléra qui se sont produits dans la zone de l'intérieur, car nous ne possédons pas toutes les données concernant l'épidémie du front et de la zone des étapes ; un de nos collègues du G. Q. G. polonais, qui se trouve en possession de ces données, doit relater prochainement l'épidémie du choléra de l'avant qui, soit dit entre parenthèse, a fait un nombre de victimes peu élevé.

Aussitôt après avoir reçu la nouvelle des premiers cas de choléra survenus au front, l'autorité militaire centrale a tracé une ligne de démarcation à la limite de la zone des étapes et de la zone de l'intérieur où ne pouvaient passer que les personnes

vaccinées depuis cinq jours au moins et qui, en outre, étaient soumises à une surveillance de la part des médecins de place dans les localités où ces soldats et ces détachements se rendaient.

Toutefois, hélas ! cet ordre fut donné quelques jours trop tard, car pendant que la frontière était encore ouverte, un train sanitaire transportant des malades et des blessés du front est arrivé à Varsovie le 5 octobre 1920. Ce train n'étant pas considéré comme suspect de choléra, les malades ont été répartis dans deux hôpitaux militaires de Varsovie, où ils sont entrés en contact avec d'autres malades et blessés hospitalisés précédemment.

Deux jours plus tard, notamment le 7 octobre, les médecins ont constaté dans un de ces hôpitaux le premier cas de choléra chez un soldat arrivé avec ce transport, et bientôt après encore quatre cas parmi les prisonniers et les soldats malades du même convoi.

Le 12 octobre, cette fois à l'encontre de l'ordre instituant la quarantaine, un autre convoi ne comprenant que des prisonniers de guerre a été dirigé du front sur Varsovie. Il a été immédiatement arrêté, et tous les prisonniers avant leur débarquement ont été soumis à une observation rigoureuse et à la recherche des porteurs de germes, ce qui a eu pour résultat la découverte d'un prisonnier malade chez lequel l'examen bactériologique a démontré la présence des vibrions cholériques dans les selles, et d'un prisonnier porteur de germes.

Ainsi le choléra a passé du front à Varsovie et a commencé à se répandre parmi les malades et le personnel sanitaire des hôpitaux militaires de Varsovie, car les quelques jours qui s'étaient écoulés depuis l'arrivée des malades dans les hôpitaux jusqu'à l'établissement du diagnostic ont suffi à ce que les malades des lits voisins se soient infectés.

Il n'est pas impossible d'ailleurs, et il est même très vraisemblable que plusieurs convois de malades et blessés, qui étaient arrivés à Varsovie avant la constatation du choléra sur le front, aient pu contenir des personnes devenues porteurs de germes, et même que plusieurs cas de décès avec le diagnostic de dysenterie (cette maladie régnait en même temps) auraient dû être attribués au choléra non reconnu.

Les mesures les plus rigoureuses ont été prises immédiatement après avoir constaté la présence du choléra dans les hôpitaux de Varsovie.

L'isolement absolu a été ordonné; chez tous les malades ainsi que chez le personnel sanitaire des hôpitaux on a recherché les porteurs de germes; tous ont été vaccinés contre le choléra. Ensuite, un des hôpitaux a été désigné pour recevoir les malades cholériques, les porteurs de germes et les cas suspects de choléra.

Les ordres des autorités sanitaires centrales ont été exécutés avec précision par les médecins de Varsovie; grâce à cela la maladie ne s'est pas répandue, et n'a causé aucun cas de contagion en dehors de ces formations sanitaires.

Toutefois, bientôt après, un autre foyer de choléra a éclaté à Varsovie. On a évacué notamment sur l'hôpital cholérique de Varsovie un soldat polonais d'un bataillon de gardes de la citadelle de Varsovie avec les symptômes cliniques de choléra chez lequel l'examen bactériologique des selles a confirmé le diagnostic. Ce bataillon a été immédiatement mis en quarantaine et soumis à la recherche des porteurs de germes: on a découvert ainsi deux porteurs, dont l'un est tombé immédiatement malade. Ce foyer s'est limité à ces 3 cas.

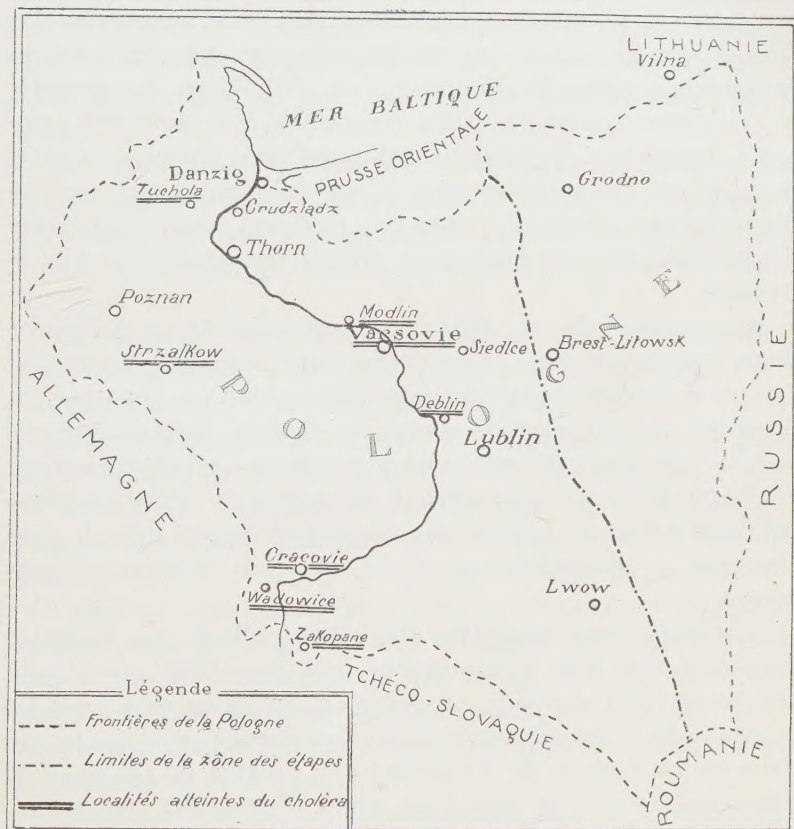
On n'a pu définir exactement la source de ce dernier foyer de choléra, mais la supposition la plus vraisemblable est celle que l'infection du soldat polonais s'est produite à la suite du contact avec les prisonniers bolchevicks qui travaillaient alors à la Citadelle et étaient justement gardés par les hommes de ce bataillon.

On n'a pas eu à enregistrer d'autres cas de choléra parmi la troupe et les prisonniers de guerre dans la garnison de Varsovie, quoique l'hôpital cholérique de Varsovie ait reçu dans la suite encore un certain nombre de cas suspects de choléra de la gare de rassemblement pour les malades de Varsovie et du camp de concentration pour les prisonniers de Rembertow, près de Varsovie; tous ces hommes venaient du front et quelques-uns d'entre eux se sont montrés porteurs de germes.

A la fin d'octobre, on a reçu à Varsovie un rapport de la forteresse de Modlin (région militaire de Varsovie), relatant

l'apparition de quelques cas suspects de choléra parmi les prisonniers de l'armée rouge.

Un bactériologiste envoyé immédiatement de Varsovie à Modlin a constaté ce qui suit : les premiers cas suspects se sont produits dans le port de la Vistule, le 24 octobre, chez



6 prisonniers bolchevicks, qui sont tombés malades avec les symptômes de diarrhée, vomissements et crampes dans les jambes; dans la nuit du 25 au 26 octobre, 4 nouveaux cas analogues se sont produits parmi les hommes du même détachement de prisonniers.

Evacués immédiatement sur l'hôpital militaire de la forteresse, 5 d'entre eux sont morts, mais l'autopsie n'a soi-disant pas confirmé le diagnostic de choléra.

En même temps, 5 prisonniers d'un autre détachement qui travaillait alors à l'Ecole de cadets de Modlin ont été évacués sur le même hôpital avec les symptômes cliniques de choléra; ainsi le nombre total de cas suspects est de 15.

L'examen bactériologique des selles, auquel on a procédé au laboratoire de l'hôpital militaire de la forteresse, a donné dans tous ces cas un résultat négatif qui comporte néanmoins des doutes sérieux, car ce laboratoire était mal approvisionné, et le bactériologiste de l'hôpital s'est vu obligé de procéder à l'ensemencement des selles suspectes non sur l'eau peptonée, mais sur le bouillon ordinaire sans peptone; d'autre part, il est à souligner que le matériel avait été prélevé d'une façon défectueuse chez les malades, car, étant puisé directement dans les bassins, il arrivait au laboratoire souillé d'urine.

En présence de ces faits, le bactériologiste de Varsovie, dans son rapport envoyé au département sanitaire du ministère de la Guerre, s'exprime avec raison ainsi : « Tous ces cas éveillent un fort soupçon quant au choléra, dont le foyer se trouve dans le détachement de prisonniers (arrivé récemment du front) et le résultat négatif de l'examen bactériologique est sans valeur en raison des fautes techniques dans le prélèvement et l'ensemencement du matériel (manque de peptone). »

D'ailleurs, des échantillons des selles prélevés par le même bactériologiste chez 3 prisonniers du même détachement qui, au moment de sa visite, se trouvaient à l'infirmerie avec les symptômes d'une affection gastro-intestinale, et apportés au laboratoire central de Varsovie, ont montré la présence de vibrions cholériques dans l'un d'eux. Egalement, un échantillon de selles prélevé à l'hôpital chez un convalescent de maladie suspecte a montré la présence des vibrions cholériques.

Ainsi, on peut considérer l'épidémie de choléra à Modlin comme suffisamment prouvée. Ce foyer, à la suite des mesures prophylactiques prises, n'a pas pris d'extension et a été rapidement éteint.

Le nombre total des cas de choléra et des porteurs de germes dans la région militaire de Varsovie se présente ainsi :

	Cas de choléra	Porteurs de germes	Cas mortels
Soldats polonais	24	38	12
Prisonniers de guerre .	17	67	8

Sur ces entrefaites a éclaté un nouveau foyer de choléra dans la forteresse de Deblin (région militaire de Lublin) dans un détachement de prisonniers arrivé du camp de concentration de Siedlce qui avait été créé pour recevoir des bolchevicks faits prisonniers par une des armées polonaises opérant au front.

Comme les installations de ce camp étaient au plus haut degré anti-hygiéniques, on a décidé, le 15 octobre, de supprimer ce camp et de répartir les prisonniers présents en détachements pour être employés aux travaux dans diverses régions de Pologne.

Les autorités sanitaires locales ne se sont pas opposées à l'exécution de cet ordre, car, jusqu'à ce jour, aucun cas de choléra n'avait été constaté dans ce camp.

Un de ces transports comprenant 400 prisonniers a été dirigé le 19 octobre de Siedlce à Deblin, et déjà trois jours après, 2 d'entre eux sont tombés malades avec les symptômes cliniques de choléra confirmés bactériologiquement. Il faut donc considérer comme source de ce foyer le camp de concentration de Siedlce, dans lequel se trouvaient selon toute probabilité des porteurs de germes. Il faut souligner la circonstance heureuse que les autres détachements, expédiés du même camp dans d'autres localités, ne contenaient pas des porteurs de vibrions cholériques, car on a évité ainsi la propagation de l'épidémie dans le pays entier.

Toutefois, un de ces détachements envoyé à Rembertow, près de Varsovie, a causé probablement les quelques cas de choléra chez les prisonniers hospitalisés à Varsovie dont il a été question plus haut.

L'épidémie de Deblin, qui s'est limitée strictement aux baraquements où les prisonniers étaient logés, a duré du 22 octobre au 7 novembre et a fourni 29 cas de choléra dont 9 mortels, ce qui donne 31 p. 100 de mortalité.

Tous les hommes de ce détachement ont été examinés au point de vue de la recherche des porteurs de germes, et on a

découvert ainsi 16 porteurs sains; il a été impossible de constater s'ils avaient subi l'atteinte du choléra précédemment.

Ainsi le foyer de Dehlin, qui a explosé subitement avec une grande force, a été liquidé en peu de temps (seize jours) et ne s'est pas étendu au dehors, ce qui est tout à l'honneur des autorités sanitaires de la région qui ont su agir rapidement et énergiquement.

Quelques jours s'étaient écoulés sans que les autorités centrales aient reçu de rapports sur les nouveaux cas de choléra dans le pays, quand, presque simultanément, ont éclaté deux nouveaux foyers de choléra, l'un au camp de prisonniers de Strzalkow, dans la région militaire de Poznan, et l'autre au camp de Wadowice, dans la région militaire de Cracovie.

L'état sanitaire du camp de prisonniers de Strzalkow était alors déplorable. Un grand nombre de prisonniers dirigés sur ce camp n'y a pas trouvé de place suffisante, et d'autre part ces hommes étaient si insuffisamment vêtus et si exténués de fatigue, qu'avec la saison froide ils devenaient facilement la proie des diverses affections de l'appareil respiratoire et digestif, ainsi que du typhus exanthématique et récurrent, et la mortalité parmi eux a pris une allure inquiétante.

L'armée polonaise était alors aussi extrêmement fatiguée en raison du grand effort qu'elle avait fourni pendant les dernières opérations militaires, le pays était en grande partie dévasté, tant et si bien que le Gouvernement polonais, malgré toute sa bonne volonté, n'a pu apporter le secours immédiat pour améliorer l'état sanitaire des prisonniers.

De cette façon, le camp de Strzalkow présentait un terrain extrêmement favorable à l'éclosion de toutes sortes d'épidémies.

Le tableau ci-dessus esquissé montre qu'en présence d'un grand nombre de malades avec le diagnostic de dysenterie, d'entérite, de faiblesse générale, etc., il est difficile de définir exactement la date et la genèse de l'épidémie du choléra dont les premiers cas ont pu passer inaperçus.

Il est impossible d'affirmer quand le choléra a débuté, d'autant plus que, vu le grand nombre de malades, les examens

bactériologiques se faisaient d'une façon superficielle, et la date du 12 novembre, à laquelle on a reçu à Varsovie la première annonce de l'apparition du choléra au camp de Strzalkow, nous paraît problématique.

Quant à la source de cette épidémie, ici encore il est difficile de la définir avec certitude, car les convois de prisonniers, dirigés sur ce camp, arrivaient des divers points du front, et quoique, en principe, ils eussent été soumis à une surveillance de quinze jours dans la zone des étapes, ils pouvaient contenir des porteurs de germes qui ont apporté la maladie; il est aussi possible que le camp de concentration de Siedlce mentionné plus haut d'où quelques détachements sont arrivés à Strzalkow, était la source de l'épidémie dans ce camp.

L'épidémie du choléra à Strzalkow a duré plus longtemps que celles survenues dans d'autres localités, car elle n'a pris fin que le 1^{er} mars, c'est-à-dire qu'elle a duré près de quatre mois.

Le nombre de cas de choléra confirmés bactériologiquement a atteint le chiffre de 435 sur le nombre total de l'effectif de 20.000 prisonniers présents, ce qui donne une morbidité de 2,2 p. 100; on a enregistré 264 décès, c'est-à-dire que la mortalité a atteint 60 p. 100; il faudrait ajouter à ces chiffres encore un certain nombre inconnu de cas de choléra non diagnostiqués.

Le nombre de porteurs de germes s'est montré à Strzalkow relativement moins élevé que dans les autres foyers de choléra, ce qu'il faut attribuer à ce fait que les recherches bactériologiques se faisaient à Strzalkow très lentement et qu'un certain nombre de porteurs ou bien ont cessé d'excréter des vibrions ou bien sont à leur tour tombés malades.

Ce n'est que le 22 janvier 1921, quand un bactériologiste énergique envoyé de Varsovie est arrivé avec un laboratoire mobile à Strzalkow, qu'on s'est mis à faire ces recherches en masse, et on a découvert dans un laps de temps très court 88 dizaines contenant des porteurs, car les recherches se faisaient par dizaines.

Ces 88 dizaines ont été examinées individuellement en quinze jours, mais on n'a retrouvé que dix-sept porteurs, les autres ayant sans doute cessé pendant ce temps-là d'héberger les vibrions cholériques.

L'épidémie de choléra, qui a fait son apparition dans la région militaire de Cracovie, a débuté également dans un camp de prisonniers bolchevicks, notamment à Wadowice.

Les conditions sanitaires dans lesquelles se trouvait alors ce camp étaient infiniment plus favorables que celles de Strzalkow, c'était un des camps des mieux entretenus où le nombre de cas des maladies contagieuses était infiniment petit. Toutefois les transports des prisonniers qui y arrivaient se composaient d'hommes en état de faiblesse extrême présentant ainsi un terrain propice pour la propagation des épidémies.

Les premiers cas de choléra ont été constatés au camp de Wadowice par le chef de laboratoire de l'hôpital militaire du camp, le 30 octobre 1920; mais il est possible que des cas de choléra non reconnus se soient produits déjà avant, ce qui résulte des enquêtes effectuées par les bactériologistes militaires de Cracovie et de Varsovie, qui ont constaté qu'au courant de plusieurs semaines précédentes il s'est produit des décès de prisonniers après une brève maladie caractérisée par la diarrhée et le collapsus.

Il est également difficile de définir de quelle localité le choléra a été transporté à Wadowice, car ce camp recevait constamment des transports de prisonniers des divers autres camps et du front, mais on peut présumer que la cause immédiate de cette épidémie consistait en arrivée à Wadowice des quelques porteurs de germes.

Le nombre total de prisonniers au camp de Wadowice atteignait alors le chiffre de près de 6.000, dont 164 ont eu le choléra et 77 sont morts, c'est-à-dire que la morbidité s'est élevée à 2,7 p. 100 et la mortalité à 47 p. 100. Les derniers cas de choléra ont été constatés le 24 novembre, l'épidémie a donc duré environ trois semaines. A part les mesures habituelles de prophylaxie, on a examiné tous les hommes présents au camp et on a trouvé 67 porteurs, ce qui fait 4,4 p. 100 du nombre total de l'effectif présent et 40,9 p. 100 de la morbidité.

Malgré toutes les mesures prises pour éteindre ce foyer le plus rapidement possible et le circonscire, on n'a pas réussi à empêcher quelques foyers nouveaux qui ont été d'ailleurs de peu d'importance et rapidement vaincus.

Ainsi, tout d'abord, une des blanchisseuses de l'hôpital militaire du camp, qui avait refusé de se faire vacciner, a pris le choléra mortel, et dans sa famille qui habitait la ville se sont produits encore quatre cas de choléra dont un mortel; grâce aux mesures rigoureuses prises et surtout l'isolement strict de la maison habitée par cette famille, on n'a pas constaté d'autres cas de choléra parmi la population civile.

Si l'apparition de ces 5 cas de choléra en dehors du camp peut être mise au compte du manque de surveillance de la part du commandement du camp, les autres foyers de choléra qui se sont produits dans la région de Cracovie ne sont imputables à aucune faute de la part des mêmes autorités.

Il est arrivé en effet qu'entre le 25 et le 30 octobre, c'est-à-dire avant la constatation des premiers cas de choléra au camp de Wadowice, on a envoyé plusieurs détachements de prisonniers de ce camp pour travaux dans différentes localités de la région, et notamment : au service des eaux à Cracovie, au camp des prisonniers de Dabie, près de Cracovie, au service des forêts à Zakopane et à Nisko.

Le 30 octobre s'est produit un cas de choléra dans le premier de ces détachements, et quelques jours après encore 2 cas dans une famille de paysans se composant de 10 personnes qui s'est trouvée en contact avec les travailleurs bolchevicks; ces 3 malades sont morts, le reste de la famille a été immédiatement isolé et vacciné, leurs selles ont été examinées et ont montré la présence des vibrions cholériques (porteurs de germes).

Vu le danger que ce détachement de prisonniers présentait pour la population civile, il a été immédiatement retiré et interné au camp de Dabie dans un lot de baraquements avec quelques autres détachements suspects arrivés de Wadowice.

Parmi ces hommes isolés il s'est produit en quinze jours 19 cas de choléra, dont 9 mortels, et on a découvert la présence de 2 porteurs de germes. On peut considérer ce résultat comme très favorable, car le camp de Dabie contenait alors plusieurs milliers de prisonniers de guerre et d'internés civils, qui ont pu échapper à l'épidémie grâce à l'isolement rigoureux des détachements suspects.

Le troisième foyer d'épidémie, ayant toujours sa source au camp de Wadowice, a éclaté à Zakopane parmi les prisonniers qui ont quitté Wadowice le 28 octobre. Déjà en route, 7 hommes de cet échelon sont tombés malades avec des symptômes suspects, et 4 d'entre eux sont morts aussitôt arrivés à destination. Vu les mauvaises conditions d'habitation que ces prisonniers ont trouvé dans les hautes montagnes de Tatra (Carpathes) et vu l'alarme donnée sur ces entrefaites par la constatation du choléra au camp de Wadowice, ces prisonniers, aussi bien les hommes valides que les malades, ont été tous évacués par un train sanitaire au camp de Dabie; en tout il y a eu dans ce détachement 16 cas de choléra dont 8 mortels. Mentionnons enfin un cas mortel de choléra chez un soldat polonais qui faisait partie de l'escorte d'un des détachements de prisonniers envoyés de Wadowice. Le détachement des prisonniers envoyé de Wadowice à Nisko n'a décelé aucun cas de choléra.

Ainsi, l'épidémie du choléra dans la région militaire de Cracovie, dans tous les foyers réunis, a fait 200 victimes avec une mortalité moyenne de 47, 75 p. 100.

A la fin de janvier 1921 a éclaté un nouveau foyer de choléra, toujours parmi les prisonniers, notamment au camp de Tuchola en Poméranie.

Cette épidémie a duré jusqu'à la moitié de mars, c'est-à-dire près de deux mois.

On peut émettre 2 hypothèses quant au point de départ de cette épidémie :

1° Ou bien chez les prisonniers venus du front on n'a pas recherché comme il faut les porteurs de germes;

2° Ou bien, ce qui est plus vraisemblable, la cause immédiate de cette épidémie est dans l'arrivée au camp de Tuchola, dans la moitié de décembre, d'un certain nombre de prisonniers du camp de Strzalkow, où le choléra alors sévissait et qui, se trouvant alors en quarantaine, n'avait pas le droit de laisser partir qui que ce soit du camp.

L'état sanitaire du camp de Tuchola était un peu meilleur que celui décrit plus haut de Strzalkow, mais ici aussi on était très loin des conditions hygiéniques satisfaisantes : les prison-

niers se trouvaient en nombre dépassant la capacité normale du camp, ils étaient peu vêtus et en état d'extrême fatigue, le chauffage des baraquements et des abris souterrains était tout à fait insuffisant, en un mot, toutes les circonstances y étaient réunies pour favoriser la propagation de l'épidémie. Aussi il n'est pas étonnant que le nombre total des cas de choléra s'est élevé à Tuchola à 174 sur l'effectif de 10.000 prisonniers (1,74 p. 100 de morbidité) avec 102 cas mortels (59 p. 100 de mortalité).

Les recherches des porteurs de germes se faisaient à Tuchola avec beaucoup de lenteur, car on manquait de laboratoire sur place et on était obligé d'envoyer tout le matériel à examiner au laboratoire régional de Grudziadz qui ne s'est pas montré à la hauteur de la tâche. Et ce n'est que beaucoup plus tard, quand on a envoyé de Varsovie un bactériologiste avec un laboratoire mobile sur place, qu'on a examiné rapidement tout le monde, mais comme l'épidémie tirait déjà à sa fin, on n'a découvert que 4 porteurs de germes.

On n'a constaté aucun cas d'infection cholérique en dehors du camp, grâce à une surveillance étroite des relations du camp avec le monde extérieur.

En résumé, l'épidémie de 1920-1921 a causé en Pologne parmi les soldats polonais et les prisonniers de guerre en tout 877 cas de choléra dont 490 mortels (55 p. 100 de mortalité).

Le nombre de porteurs de germes a atteint le chiffre de 268, c'est-à-dire que le rapport du nombre de porteurs au nombre total de cas de choléra est égal à 30,5 p. 100.

Ces 877 cas de choléra se répartissent ainsi :

Prisonniers de guerre	835
Soldats polonais	42

Dans la population civile on a enregistré 114 cas de choléra avec 57 cas mortels.

Ces chiffres et, en général, toute la marche de l'épidémie nous suggèrent quelques réflexions qui peuvent se résumer ainsi :

1° Tous les cas d'infection cholérique se sont produits à la suite du contact direct des individus sains avec les individus

malades ou les porteurs de germes, tandis que l'eau, qui avait été examinée au point de vue bactériologique avec un soin particulier dans tous les foyers épidémiques, n'a joué aucun rôle épidémiologique.

2° La découverte d'un nombre considérable de porteurs de germes est impressionnante; en effet, ce nombre a atteint en moyenne jusqu'à 30,5 p. 100 de morbidité totale, et dans certaines régions, par exemple dans la région de Varsovie, s'est élevé à 256 p. 100, et à Deblin à 62 p. 100. En général, le nombre de porteurs s'est montré d'autant plus élevé que les recherches appropriées avaient été commencées plus tôt et qu'elles étaient effectuées avec plus de précision et de rapidité. C'est d'ailleurs tout à fait compréhensible, car, plus tard on procède à de pareilles recherches, et plus lentement on les exécute, moins on a de chances de découvrir les porteurs qui cessent sur ces entrefaites d'excréter les vibriens ou deviennent eux-mêmes victimes du choléra. L'expérience a montré que ces recherches peuvent être exécutées très rapidement, sans égard à la quantité de personnes à examiner; dans ce but, on fait les examens par groupes de 10, 50 ou 100 personnes, ce qui dépendra de l'effectif présent; les selles de chaque dizaine (cinquantaine, centaine) de personnes sontensemencées dans le même ballon d'eau peptonée, et si elles donnent une culture négative, ces personnes sont rendues à la liberté, si, au contraire on obtient une culture des vibriens cholériques, on procède aux examens individuels. Pour gagner du temps, on peut, sans attendre les selles de chaque individu, faire les ensemencements à l'aide de tiges de fer enveloppées de coton, qu'on introduit dans le rectum et plonge ensuite dans l'eau peptonée. Ce dernier procédé a été employé maintes fois au courant de l'épidémie en Pologne, avec de très bons résultats.

Nous avons essayé de préciser combien de temps il faut à un porteur de germes pour s'en débarrasser complètement. Les chiffres qui nous avaient été communiqués par divers observateurs concordent assez et se maintiennent entre une et cinq semaines, en moyenne deux à trois semaines. Toutefois il faut se méfier de ces chiffres, car dans la majorité des cas on ignore le début de cet état de choses. Quand il s'agit des convalescents du choléra, l'observation a montré que les malades cessent

d'habitude d'excréter les vibrions cholériques à partir du jour de la disparition des symptômes cliniques. Divers traitements appliqués ainsi que les vaccinations préventives se sont montrés sans effet dans la lutte contre les porteurs.

On a noté des porteurs, chez lesquels les vibrions disparaissaient à un certain moment des selles, y réapparaissaient à un examen ultérieur fait quelques jours plus tard, d'où il faut conclure qu'il ne faut jamais renvoyer de l'hôpital des convalescents du choléra ou des porteurs de germes avant qu'on n'obtienne 2 et même 3 fois un examen négatif de leurs selles fait à intervalles de trois à cinq jours, sous peine de voir le choléra se propager en dehors de l'hôpital.

3° L'influence des vaccinations préventives sur la morbidité et la mortalité du choléra.

Les données que nous possédons à cet égard ne sont pas très précises, car le choléra éclatait souvent subitement à la suite des arrivages de convois de prisonniers qui ne possédaient aucun document spécifiant si et quand ils avaient été soumis aux vaccinations. Toutefois, comme il était de règle de les vacciner tous aussitôt après leur arrivée aux camps, on peut admettre que la grande majorité des cas de choléra se soient produits chez les hommes vaccinés.

L'épidémiologiste du camp de Strzalkow affirme que 300 cas de choléra se sont déclarés chez les hommes vaccinés, toutefois la mortalité était plus grande chez les individus non vaccinés que chez les vaccinés. Au camp de Tuchola, sur 174 cas de choléra, 143 se sont produits chez les vaccinés, 7 chez les non-vaccinés et 24 chez les individus vaccinés depuis plus de six mois.

Faut-il conclure de ces chiffres que les vaccinations préventives ne jouent aucun rôle dans la lutte contre le choléra? Une conclusion pareille serait en contradiction avec les statistiques publiées par divers auteurs lors des épidémies précédentes, et il n'est pas du tout dans nos intentions d'aller dans nos conclusions aussi loin; au contraire, quand on voit par exemple qu'à Strzalkow on n'a constaté que 435 cas de choléra sur l'effectif de 20.000 prisonniers, que la morbidité de Wadowice n'a été que de 1,1 p. 100 et celle de Tuchola de 1,77 p. 100, on peut présumer, que si l'on n'avait pas procédé aux vaccinations géné-

rales de tous les prisonniers, on aurait eu à déplorer un nombre de victimes beaucoup plus considérable, d'autant plus que l'isolement des malades et des suspects de choléra se faisait dans ces camps d'une façon imparfaite, vu le surpeuplement des baraquements.

A notre avis, les cas de choléra chez les individus vaccinés sont faciles à interpréter par une résistance considérablement diminuée des organismes des prisonniers qui étaient exténués à l'extrême limite, peu vêtus, mal alimentés et insuffisamment chauffés, ainsi qu'extrêmement fatigués au point de vue psychique et nerveux. Il est très probable que de tels organismes luttent mal contre l'envahissement par le microbe pathogène, même quand ils sont vaccinés, soit parce qu'ils ne sont pas en état de produire la quantité nécessaire d'anticorps spécifiques, soit que, malgré la présence de ces anticorps, leurs tissus et surtout leurs globules blancs se trouvent dans un état de faiblesse tel qu'ils ne sont pas capables d'englober et de digérer les microbes pathogènes qui se développent sans obstacle et infectent l'organisme.

Nous avons suggéré l'idée à plusieurs bactériologistes, qui ont eu à lutter contre le choléra dans les camps des prisonniers en Pologne, d'étudier cette question en mesurant le pouvoir agglutinant ou bactéricide du sérum des prisonniers vaccinés et le pouvoir phagocytaire de leurs globules blancs; malheureusement aucun renseignement ne nous est parvenu.

Notre hypothèse nous paraîtra encore plus convaincante quand nous nous rappellerons le nombre insignifiant (42) des cas de choléra parmi les soldats polonais qui, à peu d'exceptions près, ont tous été vaccinés contre le choléra, mais qui se trouvaient dans des conditions d'hygiène infiniment meilleures que les prisonniers de guerre.

D'ailleurs, nous venons d'apprendre de la bouche de M. le Dr Roux, directeur de l'Institut Pasteur, et de M. le sénateur Dr Pottevin, directeur de l'Office international d'hygiène, que des faits analogues avaient été observés pendant la grande guerre chez les soldats serbes à Corfou, après leur retraite tragique de Serbie.

Ces hommes, tous vaccinés contre le choléra, sont arrivés à Corfou dans un état physique déplorable, et le choléra a

commencé à faire parmi eux des ravages terribles; mais quelque temps de repos et une bonne alimentation ont suffi pour arrêter net l'épidémie, sans prendre d'autres mesures prophylactiques.

CONCLUSIONS

L'expérience que nous avons tirée de l'épidémie du choléra en Pologne nous autorise à exprimer les conclusions suivantes, quant aux procédés qu'il faut employer dans la lutte contre cette maladie :

1° Malgré que l'infection cholérique puisse se produire sans aucun doute par l'eau souillée par les vibrions de Koch (rivières, sources, puits, etc.), ce qui est arrivé notamment dans plusieurs épidémies anciennes (celle de Hambourg où on a trouvé les vibrions cholériques dans l'Elbe, celles de la Russie où on a trouvé les mêmes microbes dans la Néva, la Wolga, etc.), il est indiscutable que dans certaines autres épidémies le contact joue le rôle prépondérant et même exclusif dans la propagation de la maladie; donc *l'isolement* des malades et des suspects de choléra ainsi que l'établissement d'une quarantaine pour les agglomérations où s'étaient produits des cas de choléra, présente une mesure prophylactique des plus importantes. L'épidémie du choléra en Pologne nous apprend en outre que plus les communications entre diverses régions du pays sont développées, plus il y a des chances de disséminer l'infection; en effet, tous les foyers de choléra que nous venons de décrire se sont produits à la suite des envois de convois de prisonniers d'une localité dans l'autre; aussi, les autorités militaires centrales, sur la proposition émise par le Service de Santé, ont décidé, aussitôt que les conditions l'eurent permis, de suspendre tout mouvement de prisonniers, et à partir de ce moment, la lutte contre le choléra s'est limitée à l'extinction des foyers déjà existants, sans que des foyers nouveaux apparaissent.

2° Il est nécessaire de procéder à la recherche des porteurs de germes dans les collectivités où se sont produits des cas de choléra, et les porteurs, dont le nombre parfois peut être

considérable, doivent être isolés jusqu'à leur guérison complète.

3° Les convalescents du choléra ne doivent pas être renvoyés de l'hôpital avant trois examens consécutifs négatifs de leurs selles.

4° Les vaccinations préventives (1) présentent une mesure prophylactique très importante dans la lutte contre le choléra.

5° Les pays menacés du choléra doivent posséder un certain nombre de laboratoires bactériologiques mobiles et des bactériologistes expérimentés qui puissent se rendre immédiatement dans les localités où on a constaté des cas de choléra pour y poursuivre leurs recherches épidémiologiques.

6° D'autres mesures prophylactiques comme la propreté, la désinfection, une bonne alimentation, etc., ont toutes leur importance qui est tellement évidente que nous trouvons superflu de nous étendre à ce sujet.

7° Ajoutons enfin que l'article 45 de la Convention internationale de Paris de 1912, interdisant l'arrêt obligatoire des voyageurs aux gares-frontières en vue des recherches bactériologiques, ne donne aucune garantie contre la propagation du choléra par les porteurs de germes.

En s'inspirant de l'article 49 de la même Convention, le Gouvernement polonais a établi des laboratoires bactériologiques dans les localités-frontières par où s'effectue l'échange des prisonniers de guerre et des émigrés avec la Russie, où on procède dans la mesure du possible à la recherche des porteurs de germes, et ainsi on a pu éviter jusqu'à ce jour l'apparition d'une nouvelle épidémie de choléra en Pologne, qui fait tous les jours de grands ravages sur toute l'étendue de la Russie, où les journaux ont annoncé dernièrement 80.000 cas de choléra (octobre 1921).

(1) Dans l'armée polonaise on emploie le vaccin « tetra » qui présente le mélange des vibrions cholériques, des bacilles typhiques, paratyphiques A et B, tués par la chaleur.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA FABRICATION DES NITRATES PAR L'OXYDATION BIOCHIMIQUE DE L'AMMONIAQUE

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

par E. BOULLANGER.

EXPÉRIENCES SEMI-INDUSTRIELLES

Les résultats fournis par les recherches de laboratoire que nous avons exposées dans un précédent mémoire (1) ont servi de base à des expériences semi-industrielles destinées à les vérifier dans des conditions de travail réalisables en pratique et à établir les possibilités d'une fabrication des nitrates en grand par la méthode biologique.

1^o Description de l'installation.

Nous avons fait construire pour ces essais une installation représentée par le croquis ci-joint. Elle comprend neuf cases en maçonnerie, numérotées de 1 à 9 et placées côte à côte. Le croquis représente, en coupe transversale et longitudinale, une seule de ces cases : les autres sont disposées de la même manière. Chaque case est limitée à droite et à gauche par un mur ; elle est ouverte à l'avant, à l'arrière et en haut, et elle est terminée en bas par une tablette en ciment munie d'une ouverture centrale d'évacuation. La case est divisée en trois compartiments superposés ayant chacun 0 m. 50 de largeur, 1 m. 10 de longueur et 0 m. 47 de hauteur, formant ainsi un volume de 258 litres 5. Le volume total des trois compartiments qui constituent une case est donc de 775 litres 5. Entre chaque compartiment et celui qui se trouve au-dessous, on a réservé un espace vide d'environ 20 centimètres de hauteur.

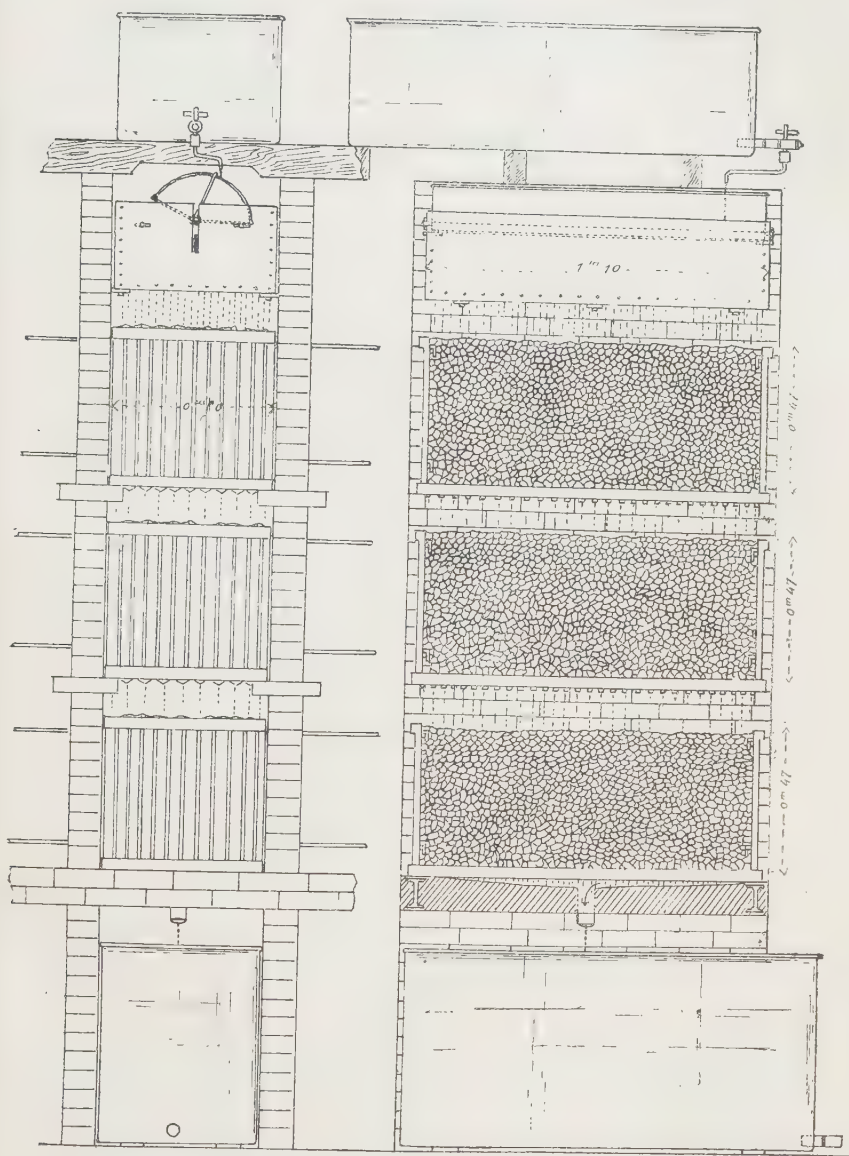
(1) Ces *Annales*, 35, septembre 1921, p. 573.

Ces compartiments sont destinés à recevoir les supports, tourbe ou pouzzolanes, pour les microbes nitrificateurs. Leur fond est constitué par une claie en bois ajouré, de 0 m. 50 sur 1 m. 10, qui maintient la matière en laissant largement passer l'air. Les planches qui forment cette claie sont découpées à la partie inférieure en ligne brisée, de manière à constituer des pointes qui répartissent régulièrement le liquide d'arrosage sur toute la surface du compartiment situé immédiatement au-dessous. Il est facile de se rendre compte de cette disposition très simple sur la figure : elle assure automatiquement la régularité d'arrosage d'un compartiment à l'autre. Les matériaux qui constituent le support microbien sont maintenus latéralement par les murs de la case, au fond par la claie de bois, en avant et en arrière par des claies de bois ajourées; le dessus est libre pour recevoir les arrosages.

Chaque case est donc formée ainsi de trois compartiments superposés, remplis de tourbe ou de pouzzolanes, séparés par deux intervalles vides qui assurent une excellente aération. La claie inférieure du compartiment du bas repose sur un épaulement à quelques centimètres de la tablette inférieure en ciment. Les liquides qui s'en écoulent passent par le tuyau central de cette tablette et se réunissent dans un bac métallique de 430 litres placé au-dessous. L'installation comprend ainsi neuf bacs de réception de liquide, soit un bac par case. Les liquides d'arrosage sont maintenus dans neuf autres bacs métalliques de 400 litres, placés à la partie supérieure, à raison d'un bac sur chaque case. Le robinet d'écoulement de chacun de ces bacs vient goutter dans une gouttière à bascule qui déverse automatiquement, nuit et jour, en oscillant autour de son axe, à des intervalles qu'on peut régler à volonté en ouvrant plus ou moins le robinet du bac, un volume donné de la solution à nitrifier dans un bac répartiteur. Ce volume peut également varier à volonté en élevant plus ou moins l'axe d'oscillation de la gouttière et en modifiant ainsi son centre de gravité et ses conditions d'équilibre. On peut donc, à volonté, augmenter le nombre des affusions horaires en réduisant leur volume, ou réduire le nombre de ces affusions en augmentant leur volume.

Les bacs répartiteurs sont constitués par des cuvettes rectan-

gulaires en tôle, ayant exactement la longueur et la largeur de chaque case. Leur fond est percé de trous de 2 millimètres de



diamètre, qui laissent échapper très régulièrement, sur toute la surface du premier compartiment de la case située au-dessous,

le volume de liquide à nitrifier déversé lors de chaque oscillation de la gouttière.

Les liquides à nitrifier traversent successivement l'épaisseur des trois compartiments, soit 1 m. 41, et se réunissent dans le bac inférieur. Tous les bacs et ustensiles métalliques sont revêtus d'un enduit protecteur, à base de paraffine, pour éviter leur attaque par les solutions salines concentrées.

L'installation est complétée par une pompe centrifuge qui assure le mouvement mécanique et le transvasement des liquides et par deux bacs de traitement chimique, pour les doubles décompositions des solutions de nitrate de chaux écoulées des nitrières. Enfin des appareils de chauffage à la vapeur permettent de maintenir, dans la pièce où se trouvent les cases, une température voisine de 28°.

Cette installation avait été construite pour réaliser le mode de travail préconisé par Müntz et Lainé, exposé dans notre précédent mémoire, et consistant à faire passer un même liquide à nitrifier sur neuf nitrières successives. Mais à la suite des résultats obtenus dans nos essais de laboratoire par la repasse des solutions sur nitrière unique, nous avons décidé de faire fonctionner ces cases isolément, ce qui permettait d'y étudier comparativement la tourbe et les pouzzolanes, l'influence de l'état physique de la tourbe, les conditions les plus favorables de mise en route et de travail pratique, la nature des sels ammoniacaux à employer, etc.

2° Mise en marche et fonctionnement des cases.

Nous avons utilisé pour nos essais sept des cases décrites ci-dessus : les deux dernières ont été réservées pour des expériences éventuelles à entreprendre par la suite.

Les cases 1 et 2 ont été chargées avec une tourbe compacte en morceaux de la grosseur d'un œuf.

La case 3 devait recevoir de petites briquettes de tourbe façonnées au moule et séchées ensuite au séchoir, de manière à constituer des lits très perméables et très réguliers. Mais ces briquettes n'ont pas offert la résistance nécessaire ; elles ont alors été concassées en petits morceaux dont la grosseur variait de celle d'un pois à celle d'une noix, c'est-à-dire beaucoup plus

ainsi que ceux des cases 1 et 2. La case 3 a été remplie de ces petits fragments de tourbe façonnée.

Les cases 4 et 5 ont été faites avec une tourbe mousseuse de Seine-et-Oise, très légère, très spongieuse, en morceaux de la grosseur d'une noix.

La case 6 a été chargée de pouzzolanes du Puy et la case 7 de pouzzolanes de Gravenoire, en grains gros comme des noyaux de cerises.

Pour toutes ces cases, le chargement s'est fait en disposant peu à peu, dans chaque compartiment, des couches successives de 10 centimètres de morceaux de tourbe gonflés d'eau, ou de pouzzolanes. Dès qu'une couche était terminée, on répartissait, avant de faire la couche suivante, du blanc de Meudon (carbonate de chaux naturel en poudre très fine), du phosphate de chaux naturel et du terreau, de manière à introduire finalement, par mètre cube de tourbe ou de pouzzolanes, 16 kilogr. de carbonate de chaux, 3 kilogr. de phosphate de chaux et 5 kilogr. de terreau. La craie constitue une réserve de calcaire pour la saturation de l'acide nitrique formé, le phosphate de chaux donne aux microbes nitrificateurs l'acide phosphorique qui leur est nécessaire, le terreau apporte les organismes de la nitrification et sert ainsi à l'ensemencement.

Les cases étant ainsi chargées jusqu'en haut on a fait passer pendant huit jours de l'eau sur les appareils, à raison de 300 litres par mètre cube de support et par jour. Ce lavage avait pour but, avec la tourbe, d'éliminer les produits acides qu'elle renferme et certaines matières organiques altérables qui gêneraient le travail. L'eau qui traverse s'écoule d'abord absolument rouge, puis elle s'éclaircit peu à peu quand le lavage se termine. Avec les pouzzolanes, un lavage de quarante-huit heures suffit, pour entraîner simplement les poussières : les liquides passent immédiatement incolores.

Les cases ont alors été mises en marche en commençant par des affusions faibles d'une solution de sulfate d'ammoniaque à 2 gr. 2 par litre. Ces affusions variaient de 40 litres à 80 litres par mètre cube de tourbe et par vingt-quatre heures; elles correspondaient à un ou deux déversements par heure d'un volume de 1.280 cent. cubes de solution, sur chaque case de 775 litres, par la gouttière à bascule, et les robinets d'alimen-

lation étaient réglés en conséquence. Cette marche a été poursuivie jusqu'à ce que les réactifs usuels indiquent une nitrification bien établie, ce qui a demandé, suivant les cases, de dix-huit à trente jours. Le peuplement en microbes nitrificateurs étant ainsi bien effectué, on a substitué à la solution de sulfate d'ammoniaque une solution de nitrate d'ammoniaque renfermant par litre 0 gr. 45 d'azote nitrique et 0 gr. 45 d'azote ammoniacal; puis chaque fois que les 365 litres de solution d'arrosage, que renfermait le bac supérieur, avaient traversé la masse d'une case, on reprenait dans le bac inférieur le liquide écoulé, on le ramenait au titre de 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, sous le volume reconstitué à 365 litres, par addition de nitrate d'ammoniaque, et on utilisait ce liquide pour un nouvel arrosage sur la nitière. Les affusions journalières, pendant cette période qui a duré de dix à quinze jours, ont été progressivement élevées jusqu'à 240 litres par mètre cube de tourbe ou de pouzzolanes. On constate que le titre en azote nitrique des solutions écoulées monte peu à peu par suite des repasses et que ces solutions ne contiennent presque plus d'ammoniaque non nitrifiée.

On porte alors la richesse en azote ammoniacal de la solution d'arrosage à 0 gr. 90 par litre, en utilisant toujours les liquides écoulés de chaque case pour reconstituer un nouveau volume de 365 litres de liquide d'arrosage au titre de 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre, par addition de nitrate d'ammoniaque, par la méthode que nous avons décrite dans notre premier mémoire. Cette période dure environ dix à quinze jours; le volume des affusions journalières est porté progressivement de 120 litres à 240 litres par mètre cube de support et le titre en azote nitrique des liquides écoulés continue à monter régulièrement par suite des repasses.

A ce moment, soit trente-huit à soixante jours après la mise en marche, on a porté le titre en azote ammoniacal de la solution d'arrosage à 1 gr. 3 par litre, en utilisant toujours une fraction calculée du liquide nitrifié écoulé, dans laquelle on dissolvait la quantité nécessaire de nitrate d'ammoniaque pour avoir un titre en azote ammoniacal constant de 1 gr. 3 par litre. Les repasses de ce liquide sur chaque case, à raison de 120 à 160 litres par mètre cube de support et par jour, ont

permis ainsi d'élever en quinze à vingt jours le titre en azote nitrique à environ 7 gr. 6 par litre dans le liquide écoulé, ce qui correspond à une richesse en nitrate de chaux anhydre d'environ 45 grammes par litre.

A ce moment, la mise en marche peut être considérée comme terminée, car le taux de nitrate de chaux de la solution écoulée est suffisant pour que l'évaporation soit pratiquement possible en industrie sans dépenses exagérées de charbon. Cette mise en marche a duré de cinquante trois à quatre-vingts jours suivant les cases.

Celles-ci ont alors été maintenues en fonctionnement, dans des conditions déterminées que nous exposerons pour chacune d'elles, pendant un temps qui, pour certaines d'entre elles, a dépassé *quinze mois*. Il importait en effet de s'assurer de la possibilité d'un travail industriel prolongé. Dans toute cette période, on reconstituait sans cesse, pour les besoins de l'arrosage, le volume de 365 litres dans le bac supérieur d'alimentation, au titre choisi pour l'expérience. Pour obtenir par exemple ces 365 litres de nouvelle solution d'arrosage titrant 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre au moyen de la solution écoulée de la case, on déterminait les titres *a* et *b* de cette solution écoulée en azote ammoniacal et en azote nitrique. Si on désigne par *V* le volume à prélever sur cette solution et par *d* la quantité d'azote ammoniacal à réintroduire sous forme de nitrate d'ammoniaque, on a, comme nous l'avons vu dans notre précédent mémoire, les deux équations :

$$365 \times 5,7 = Vb + d.$$

$$365 \times 1,3 = Va + d.$$

Ces deux équations déterminent *V* et *d*. Après prélèvement, dans le bac inférieur, du volume *V* de liquide écoulé, ainsi calculé, et renvoi de ce volume dans le bac supérieur vide pour la reconstitution de la solution d'arrosage, on fait passer le reste du liquide écoulé dans un des bacs de double décomposition, où il est traité par une quantité calculée de sulfate ou de carbonate d'ammoniaque, de manière à faire passer tout le nitrate de chaux à l'état de nitrate d'ammoniaque. Il se précipite du sulfate ou du carbonate de chaux, et on obtient une solution de nitrate d'ammoniaque dont on établit le titre et sur

laquelle on prélève le volume nécessaire pour introduire la quantité *d* d'azote ammoniacal déterminée ci-dessus. Cette quantité *d* est envoyée dans le bac supérieur d'alimentation; on ajoute alors dans ce bac la quantité d'eau nécessaire pour amener le volume à 365 litres et reconstituer ainsi au titre voulu la solution d'arrosage.

Quant au reste de la solution de nitrate d'ammoniaque, titrant en moyenne 45 à 50 grammes par litre, elle constitue la production de la nitrière, qu'on peut sortir pour l'envoyer à l'évaporation.

Après quelque temps de fonctionnement, les affusions de 120 litres par mètre cube de support et par jour ont dû partout être réduites progressivement, d'abord à 80 litres, puis à 70 litres et même à 50 litres, conformément aux résultats obtenus dans nos expériences de laboratoire.

Signalons enfin qu'à chaque nouvelle addition de sel ammoniacal on ajoutait dans chaque case la quantité de calcaire nécessaire pour saturer l'acide nitrique correspondant à cette quantité d'ammoniaque. Ce calcaire, sous forme de blanc de Meudon très fin, était réparti, à la surface de chaque compartiment de la case, avec une petite pompe, après délayage dans un peu de liquide nitrifié. Son entraînement dans les profondeurs du lit se faisait assez aisément par le passage des liquides.

D'ailleurs les cases n'ont jamais manqué de calcaire, car l'entraînement se manifestait jusque dans le bac inférieur de récolte du liquide, en petites quantités qu'on remontait à la pompe, et les liquides nitrifiés avaient toujours une réaction alcaline à l'orangé.

3° Essais réalisés dans les diverses cases.

Il nous reste maintenant à décrire les essais que nous avons réalisés sur les diverses cases, qui n'ont pas été toutes soumises à un traitement identique. Certains essais ayant été faits en double, sur deux cases à la fois, nous nous bornerons, pour ne pas trop allonger ce mémoire, à donner les résultats fournis par l'une d'elles, les résultats ayant toujours été identiques dans ces expériences en double.

CASE N° 1. — La mise en marche de cette case de tourbe a eu lieu très lentement, afin de pouvoir se rendre compte de l'influence de chaque volume d'affusion journalière, pendant un temps suffisant. L'arrosage avec la solution de sulfate d'ammoniaque à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre a duré un mois, l'affusion journalière croissant de 40 à 120 litres par mètre cube de tourbe. Les solutions écoulées ne renfermaient plus d'ammoniaque; elles étaient à peu près exemptes de nitrites et ne contenaient que des nitrates. Le peuplement microbien étant ainsi bien effectué, on a utilisé pour les arrosages une solution de nitrate d'ammoniaque renfermant 0 gr. 45 d'azote nitrique et 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, en portant les affusions journalières à 160 litres par mètre cube de tourbe pendant une semaine, puis à 240 litres au mètre cube pendant cinq jours. Chaque fois que les 365 litres du bac supérieur d'alimentation étaient écoulés, on reprenait une fraction du liquide écoulé dans le bac inférieur et on le ramenait, par la méthode que nous avons indiquée, à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, par addition de nitrate d'ammoniaque, pour le remonter dans le bac supérieur d'alimentation et le repasser sur la nitrière. Le titre en azote nitrique de la solution écoulée s'est élevé ainsi, dans cette période, de 0 à 1 gr. 788 par litre.

On a substitué alors à la solution à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre la solution à 0 gr. 9 par litre, en réduisant à 120 litres par mètre cube de tourbe l'affusion journalière, pendant une semaine, puis en la portant à 160 litres pendant six jours et à 240 litres pendant quatre jours. Le titre en azote nitrique est monté peu à peu, pendant toute cette période et par les repasses effectuées comme nous l'avons vu plus haut, de 1 gr. 788 à 3 gr. 534 d'azote nitrique par litre dans le liquide écoulé. Mais il était déjà visible que l'affusion de 240 litres ne pourrait pas être supportée longtemps par la nitrière, car il restait près de 0 gr. 5 par litre d'azote ammoniacal non nitrifié dans le liquide écoulé, soit plus de 50 p. 100 de l'azote ammoniacal introduit.

Nous avons cependant continué l'usage de ces affusions fortes, pour trancher la question d'une façon définitive, et nous rendre compte si l'augmentation d'activité des ferments ne

pourrait pas permettre le maintien ultérieur de ces affusions. On a substitué à la solution à 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre la solution à 1 gr. 3, en réduisant à 160 litres par mètre cube de tourbe l'affusion journalière pendant une semaine, puis en la portant à 240 litres. Mais au bout de quatre jours de ce régime, la quantité d'azote ammoniacal oxydée n'atteignait plus que le tiers de la quantité introduite.

Il était donc démontré qu'en marche industrielle continue comme en essais de laboratoire, le volume des affusions journalières devait être considérablement réduit pour qu'on puisse maintenir pendant longtemps un travail normal. Les liquides écoulés titraient, au bout de soixante-douze jours de travail, 4 gr. 372 d'azote nitrique par litre, et 0 gr. 927 d'azote ammoniacal restant. On a donc réduit d'abord l'affusion journalière à 160 litres par mètre cube de tourbe, pendant dix-huit jours consécutifs. Le taux d'azote nitrique s'est élevé, par les repasses, peu à peu à 6 gr. 98 par litre, mais l'azote ammoniacal non oxydé restait encore aux environs de 0 gr. 850 par litre dans le liquide écoulé.

La démonstration de l'impossibilité du maintien des affusions fortes en travail industriel prolongé était donc complète. On a alors réduit l'affusion journalière à 80 litres par mètre cube de tourbe, chiffre qui correspond sensiblement à celui que nous avons considéré comme possible dans nos expériences de laboratoire. Le liquide écoulé était toujours repris et repassé sur la nitrière, après avoir ramené, sous un volume de 365 litres, le taux à 5 gr. 7 d'azote nitrique et à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. La nitrière a été ainsi maintenue en fonctionnement avec ce régime du 19 septembre au 2 décembre, soit pendant un mois et demi. La teneur du liquide écoulé en azote ammoniacal restant a diminué peu à peu de 0 gr. 850 à 0 gr. 15, mais nous n'avons pu descendre au-dessous de ce chiffre, qui est même remonté peu à peu, par la suite, pour se fixer aux environs de 0 gr. 3 par litre. L'affusion de 80 litres par mètre cube de tourbe et par jour paraît donc être l'affusion maxima que peut tolérer la nitrière en marche continue, avec des liquides renfermant 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre à oxyder et une surcharge de 40 à 45 grammes par litre de nitrate de chaux préformé.

Par suite de la concentration par évaporation, les solutions écoulées, provenant de ce liquide d'arrosage à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, titraient en moyenne 7 gr. 6 d'azote nitrique par litre, avec 0 gr. 3 d'azote ammoniacal restant.

Nous avons alors tenté d'élever un peu la concentration en nitrate de chaux en portant la richesse en azote nitrique de la solution d'arrosage, par repasses successives, d'abord à 6 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, puis à 7 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. Le taux d'azote nitrique de la solution écoulée s'est ainsi élevé à 9 gr. 8 par litre en moyenne, soit 56 grammes par litre environ de nitrate de chaux anhydre, le titre en azote ammoniacal restant aux environs de 0 gr. 3 à 0 gr. 4 par litre. La marche de la case a continué ainsi pendant plus d'une année avec des résultats sensiblement constants.

Cet essai avait surtout pour but de fixer d'une façon précise les possibilités de marche industrielle continue et prolongée et de déterminer le volume maximum des affusions journalières correspondant à cette marche, avec des solutions d'arrosage renfermant 1 gr. 3 à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre avec une charge de 45 à 55 grammes par litre de nitrate de chaux préformé. On voit nettement qu'*un fonctionnement régulier et prolongé des nitrières est parfaitement réalisable, à condition de ne pas dépasser une affusion de 70 litres de solution d'arrosage par mètre cube de tourbe et par jour.*

Nous n'avons pas fait d'essais de rendement industriel sur cette case.

CASE N° 2. — La case n° 2, identique à la précédente, a subi exactement le même traitement : sa marche et ses résultats ont été les mêmes que ceux de la case n° 1.

CASE N° 3. — Cette case, remplie de menus fragments de briquettes de tourbe, a été mise en marche beaucoup plus rapidement que les cases 1 et 2. Les arrosages avec la solution de sulfate d'ammoniaque à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre n'ont duré que quinze jours, puis on a procédé pendant dix jours à des arrosages avec la solution de nitrate d'ammo-

niaque à 0 gr. 45 d'azote ammoniacal par litre, en repassant chaque fois le liquide écoulé après nouvelle addition de sel ammoniacal et en portant peu à peu l'affusion à 240 litres par mètre cube et par jour. On a alors employé pendant huit jours la solution à 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre, en portant progressivement l'affusion journalière de 120 à 240 litres au mètre cube de tourbe. Trente-trois jours après le début des arrosages, on a commencé à utiliser la solution à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. On a d'abord essayé les affusions de 160 litres et de 240 litres au mètre cube de tourbe, mais après quelques jours d'arrosages il restait dans le liquide nitrifié environ 50 p. 100 de l'azote ammoniacal non oxydé. Il a donc fallu revenir à l'affusion de 120 litres, qui a été très bien supportée *pendant cinq semaines* : l'azote ammoniacal restant était tombé à quelques milligrammes par litre. Mais au bout de cette période, l'azote ammoniacal restant a commencé à augmenter peu à peu, pour atteindre au bout de trois nouvelles semaines 40 p. 100 de l'azote ammoniacal introduit et il a fallu, dans cette case comme dans les deux précédentes, réduire l'affusion à 70 litres par mètre cube de tourbe et par jour.

Ce résultat montre combien il faut être prudent dans les conclusions relatives au volume possible des affusions journalières. Ce n'est qu'*après une expérimentation prolongée pendant plusieurs mois qu'il est possible de tirer des conclusions fermes* : les résultats extrêmement favorables signalés par Müntz et Lainé dans leurs essais de laboratoire, poursuivis seulement pendant quelques heures, ne peuvent pas être envisagés un seul instant en pratique industrielle.

La case n° 3 a fonctionné pendant six mois encore, comme les cases 1 et 2, en donnant régulièrement des liquides à 7 gr. 55 d'azote nitrique par litre, avec 0 gr. 3 environ d'azote ammoniacal restant.

On a fait varier, tous les huit jours, le nombre des déversements par la gouttière, tout en conservant le volume total journalier de 70 litres, afin de se rendre compte de l'influence du mode de déversement de la solution d'arrosage. L'affusion a été ainsi donnée d'abord à raison de douze déversements de 240 centimètres cubes par heure, puis on a réduit, semaine par

semaine, le nombre des déversements par heure, en augmentant leur volume, pour arriver finalement à un déversement de près de six litres à la fois toutes les deux heures, le volume total journalier restant constant et fixé à 70 litres par mètre cube de tourbe. Nous n'avons pas constaté de différences sensibles dans le fonctionnement de la nitrière avec ces divers modes d'alimentation : il semble donc que *dans les limites adoptées pour ces essais* le mode de déversement de la solution d'arrosage soit sans grande importance.

Remarquons enfin l'influence de l'état physique de la tourbe sur la marche de la nitrière. Les résultats fournis *au début* par la case n° 3 ont été très supérieurs à ceux des cases n° 1 et n° 2. Ce fait ne peut tenir qu'au façonnage de la tourbe en briquettes, avec incorporation intime de calcaire. Mais par la suite les résultats des trois cases ont été sensiblement les mêmes.

CASES N°S 4 ET 5. — Ces deux cases, chargées de la même tourbe que la case n° 3, mais à l'état naturel et en morceaux de la grosseur d'une noix, ont marché parallèlement. Leur mise en route a été sensiblement la même que celle de la case n° 3, avec cette différence cependant qu'on a renoncé aux affusions de 240 litres avec la solution à 0 gr. 9 d'azote ammoniacal par litre et à celles de 160 et 240 litres avec la solution à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, les expériences précédentes sur les cases 1, 2, et 3 ayant démontré que ces affusions ne peuvent pas être supportées par les appareils. On a pu éviter ainsi l'élévation anormale du taux d'azote ammoniacal restant dans le liquide nitrifié. L'affusion de 120 litres par mètre cube de tourbe et par jour avec la solution à 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre a été maintenue un mois, le titre en azote nitrique de la solution écoulée croissant peu à peu jusqu'à 7 gr. 3 par litre. La quantité d'azote ammoniacal non nitrifié étant trop forte, l'affusion journalière a dû être ramenée au bout d'un mois à 80 litres par mètre cube de tourbe. La marche s'est alors à peu près régularisée.

Ces cases ont fonctionné pendant six mois avec un contrôle régulier de toutes les entrées et de toutes les sorties d'azote, de manière à pouvoir dresser un bilan aussi exact que possible

du rendement d'une nitrière de tourbe. Pendant toute cette période, le liquide d'arrosage a titré 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. Dès que les 365 litres de solution d'arrosage, contenus dans le bac supérieur, étaient écoulés, on prenait dans le bac inférieur le volume du liquide nitrifié, on y dosait aussitôt l'azote nitrique et l'azote ammoniacal; on déterminait ainsi, par les deux équations précédemment indiquées, le volume V à remonter dans le bac supérieur et la quantité d d'azote nitrique et ammoniacal à réintroduire sous la forme de solution de nitrate d'ammoniaque pour reconstituer les 365 litres de solution d'arrosage au titre voulu: on mesurait le volume restant dans le bac inférieur et on l'envoyait au bac de double décomposition par le sulfate d'ammoniaque. Ce dernier bac livrait tout le nitrate d'ammoniaque nécessaire pour introduire chaque fois la quantité d demandée par la nitrière. Le reste constituait la production en nitrate d'ammoniaque. On aurait pu, aussi facilement, avoir la production en nitrate de chaux en ne décomposant par le sulfate d'ammoniaque que la quantité nécessaire pour avoir chaque fois la quantité d sous forme de nitrate d'ammoniaque pour alimenter la nitrière.

Le tableau suivant résume la marche de la case 4 dans toute cette période.

Les chiffres donnés par ce tableau permettent d'établir le rendement pratique d'une nitrière. La marche de la case 4 a été poursuivie, comme nous le verrons, après le 17 avril, mais nous avons supposé, pour établir la balance entre l'azote entré et l'azote récupéré, que tout le volume écoulé de la nitrière à la date du 17 avril avait été sorti à cette époque. L'azote ammoniacal introduit dans les huit mois de fonctionnement a été de 0 kilogr. $328 + 15 \text{ kilogr. } 697 = 16 \text{ kilogr. } 025$. D'autre part l'azote nitrique introduit dans la même période a été de 15 kilogr. 697. Or, on a récupéré 26 kilogr. 502 d'azote nitrique et 1 kilogr. 440 d'azote ammoniacal non oxydé; mais il faut, pour faire le bilan total de la transformation, ajouter à ces chiffres l'azote correspondant au liquide qui imbibe la masse de la tourbe à la fin de l'expérience. Ce liquide peut être évalué approximativement en comptant que la tourbe saturée retient 350 litres au mètre cube. Le volume correspondant à

la case de 775 litres de tourbe serait donc de 270 litres. En admettant comme composition de ce liquide la moyenne entre le liquide d'arrosage et le dernier liquide écoulé, ce qui est sensiblement exact, on a donc à ajouter 270 litres à $\frac{5,7 + 7,556}{2} = 6 \text{ gr. } 628$ d'azote nitrique et à $\frac{1,3 + 0,368}{2} = 0 \text{ gr. } 834$ d'azote ammoniacal par litre, soit 1 kilogr. 790 d'azote nitrique et 0 kilogr. 225 d'azote ammoniacal. La totalité d'azote nitrique récupéré est donc de $26,502 + 1,790 = 28 \text{ kilogr. } 292$ et la totalité de l'azote ammoniacal retrouvé est de $1,410 + 0,225 = 1 \text{ kilogr. } 635$.

Si nous envisageons la totalité de l'azote entré et si nous comparons ce chiffre à la totalité de l'azote récupéré, on voit que sur 31 kilogr. 722, on en retrouve 29 kilogr. 927, ce qui correspond à un rendement de 94,3 p. 100. Mais ce calcul suppose qu'une fraction de l'azote nitrique introduit s'est perdu dans le fonctionnement de la nitrière. Si nous supposons que l'azote nitrique introduit ne subit aucune déperdition, le bilan de la transformation de l'azote ammoniacal prend un autre aspect. On voit en effet que $16,025 - 1,635 = 14 \text{ kilogr. } 390$ d'azote ammoniacal disparus ont donné $28,292 - 15,697 = 12 \text{ kilogr. } 595$ d'azote nitrique formé, en supposant que les 15 kilogr. 697 d'azote nitrique introduits n'aient subi aucune perte. Ces chiffres correspondent à un rendement de 87,5 p. 100, et c'est là le rendement réel de la transformation de l'azote ammoniacal. On voit que ce rendement est légèrement supérieur à celui que nous avons obtenu dans nos expériences en cloches.

D'ailleurs, si nous envisageons la période de marche régulière et normale avec la solution à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, nous pouvons calculer, au moyen des chiffres du tableau précédent, que la teneur moyenne du liquide écoulé a été de 7 gr. 499 d'azote nitrique et de 0 gr. 367 d'azote ammoniacal par litre, sous un volume moyen de 318 lit. 6 par période de six jours. Le volume primitif du liquide d'arrosage étant dans cette même période de 365 litres, on voit que si le liquide écoulé n'avait subi aucune concentration par évaporation, il titrerait, sous ce volume de 365 litres, 6 gr. 546 d'azote nitrique et 0 gr. 320 d'azote ammo-

PÉRIODES	ANALYSES par mètre cube de tourbe et par cour, en litres	AZOTE INTRODUIT en kilogr.			TENEUR DU LIQUIDE			VOLUME EN LITRES			AZOTE RÉTENU A LA SORTIE en kilogr.		
		par le sulfate d'ammo- niaque	PAR LE NITRATE D'AMMONIUM		en gr., par litre AZOTE	D'ARROSE en gr., par litre	ÉCOULÉ en gr., par litre en fin de période	repris pour la reconsti- tution du lit de 5 litres de solution d'ar- rage à la fin de la période	sorti et envoyé	extraction	nitrique	ammonia cal	total
			nitrique	ammonia cal									
17-28 août 1917	40	0,164	"	"	0	0,45	0,14	318	"	"	"	"	"
29-3 sept.	80	0,164	"	"	0,12	0,45	0,50	36	286	"	0,443	0,000	0,443
4-7 —	120	"	0,164	"	0,5	0,45	0,64	207	113	"	0,072	0,002	0,074
8-10 —	160	"	0,160	"	0,8	0,45	1,10	223	95	"	0,105	0,004	0,109
11-12 —	240	"	0,156	"	1,1	0,45	1,43	250	69	"	0,099	0,003	0,102
13-14 —	240	"	0,153	"	1,4	0,45	1,756	494	123	"	0,216	0,007	0,223
15-19 —	94	"	0,317	"	1,8	0,9	2,166	233	87	"	0,188	0,012	0,200
20-22 —	160	"	0,297	"	2,2	0,9	2,835	244	74	"	0,210	0,022	0,232
23-25 —	160	"	0,257	"	2,6	0,9	3,323	208	114	"	0,379	0,029	0,408
26-29 —	120	"	0,421	"	3,05	1,3	3,791	234	87	"	0,330	0,031	0,361
30-3 oct.	120	"	0,390	"	3,5	1,3	4,538	237	83	"	0,377	0,038	0,415
4-7 —	120	"	0,366	"	3,95	1,3	4,928	261	61	"	0,301	0,030	0,331
8-11 —	120	"	0,320	"	4,4	1,3	5,516	263	57	"	0,314	0,033	0,347
12-15 —	120	"	0,320	"	4,85	1,3	5,978	268	50	"	0,299	0,027	0,326
16-19 —	120	"	0,331	"	5,3	1,3	6,502	268	52	"	0,338	0,027	0,365
20-23 —	120	"	0,338	"	5,7	1,3	6,987	248	74	"	0,547	0,038	0,585
24-27 —	120	"	0,346	"	5,7	1,3	7,363	235	83	"	0,644	0,043	0,687
28-31 —	120	"	0,353	"	5,7	1,3	7,287	233	95	"	0,692	0,037	0,729
1 ^{er} -6 nov.	80	"	0,388	"	5,7	1,3	7,233	232	99	"	0,716	0,031	0,747

23-30	—	—	—	0,394	5,7	1,3	7,597	0,391	223	92	0,699	0,036	0,733
4-6 déc.	—	—	—	0,387	5,7	1,3	7,557	0,360	223	95	0,718	0,034	0,752
7-12	—	—	—	0,394	5,7	1,3	7,493	0,370	225	94	0,704	0,035	0,739
13-18	—	—	—	0,391	5,7	1,3	7,520	0,358	224	95	0,714	0,034	0,718
19-24	—	—	—	0,394	5,7	1,3	7,290	0,429	234	91	0,663	0,039	0,702
25-30	—	—	—	0,374	5,7	1,3	7,589	0,344	222	94	0,713	0,032	0,745
31-5 janv. 1915	—	—	—	0,399	5,7	1,3	7,457	0,409	228	91	0,679	0,037	0,716
6-11	—	—	—	0,381	5,7	1,3	7,500	0,365	225	94	0,705	0,034	0,739
12-17	—	—	—	0,392	5,7	1,3	7,583	0,342	222	94	0,713	0,032	0,745
18-23	—	—	—	0,395	5,7	1,3	7,533	0,348	223	97	0,731	0,034	0,765
24-29	—	—	—	0,397	5,7	1,3	7,471	0,368	226	94	0,702	0,035	0,737
30-4 fév.	—	—	—	0,391	5,7	1,3	7,357	0,445	221	92	0,677	0,038	0,715
5-10	—	—	—	0,379	5,7	1,3	7,549	0,394	224	91	0,687	0,036	0,725
11-16	—	—	—	0,386	5,7	1,3	7,563	0,391	224	91	0,688	0,036	0,711
17-22	—	—	—	0,387	5,7	1,3	7,617	0,351	221	93	0,708	0,033	0,711
23-28	—	—	—	0,377	5,7	1,3	7,583	0,330	221	94	0,713	0,031	0,741
4-6 mars	—	—	—	0,402	5,7	1,3	7,591	0,318	221	94	0,714	0,030	0,744
7-12	—	—	—	0,404	5,7	1,3	7,557	0,336	222	94	0,710	0,032	0,742
13-18	—	—	—	0,400	5,7	1,3	7,396	0,357	228	94	0,695	0,034	0,729
19-24	—	—	—	0,393	5,7	1,3	7,513	0,361	225	93	0,699	0,034	0,733
25-30	—	—	—	0,393	5,7	1,3	7,558	0,388	224	91	0,688	0,035	0,723
31-5 avril	—	—	—	0,388	5,7	1,3	7,591	0,375	223	90	0,683	0,034	0,747
6-11	—	—	—	0,391	5,7	1,3	7,575	0,343	222	95	0,720	0,033	0,753
12-17	—	—	—	0,398	5,7	1,3	7,537	0,357	224	93	0,701	0,033	0,734
18-23	—	—	—	0,395	5,7	1,3	7,556	0,368	»	315	2,380	0,146	2,496
Totaux	»	0,328	45,697	15,697	»	»	»	»	»	»	26,502	1,410	27,912

niacal par litre. Donc, $6 \text{ gr. } 546 - 5 \text{ gr. } 7 = 0 \text{ gr. } 846$ d'azote nitrique ont été obtenus au moyen de $1,3 - 0,32 = 0 \text{ gr. } 98$ d'azote ammoniacal, ce qui correspond à un rendement de 86,3 pour 100, chiffre voisin du précédent.

A partir du 17 avril 1918, on a commencé à faire monter le titre en azote nitrique de la case 4, en repassant sans cesse les liquides écoulés sur la nitière, après addition d'une nouvelle dose de nitrate d'ammoniaque pour ramener toujours la teneur en azote ammoniacal à 1 gr. 3 par litre. Nous avons pu ainsi, au bout de trois mois, élever le titre de la solution d'arrosage à 15 grammes d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. Les liquides écoulés titraient en moyenne 18 gr. 182 d'azote nitrique par litre, par suite de la concentration par évaporation, avec 0 gr. 385 en moyenne d'azote ammoniacal restant, mais l'affusion journalière a dû être abaissée à 50 litres par mètre cube de tourbe et par jour, pour que le fonctionnement de la nitière reste régulier avec des liquides à cette concentration. Le volume moyen écoulé dans chaque période de dix jours ayant été de 318 litres, on voit que la solution moyenne écoulée, ramenée au volume primitif de 365 litres, aurait titré 15 gr. 841 d'azote nitrique et 0 gr. 335 d'azote ammoniacal par litre. Donc $15 \text{ gr. } 841 - 15 \text{ gr. } = 0 \text{ gr. } 841$ d'azote nitrique ont été obtenus au moyen de $1 \text{ gr. } 3 - 0 \text{ gr. } 335 = 0 \text{ gr. } 965$ d'azote ammoniacal, ce qui correspond à un rendement de 87,1 p. 100. On peut donc parfaitement obtenir, en marche industrielle continue, des liquides renfermant près de 11 p. 100 de nitrate de chaux anhydre. Il est même probable que cette concentration pourrait être légèrement dépassée et amenée à 14 p. 100 de nitrate de chaux par litre, comme nous l'avons réalisé dans les expériences en cloches décrites dans notre premier mémoire.

Le fonctionnement de ces deux cases a été arrêté en novembre 1918, au moment de l'armistice, après une marche de plus de quinze mois.

Trois semaines avant cet arrêt, nous avons sacrifié la case 5 pour étudier l'influence de l'épaisseur du lit de tourbe sur l'oxydation de l'ammoniaque. Nous avons d'abord supprimé le compartiment du bas, en plaçant au-dessous du compartiment du milieu une plaque métallique paraffinée qui recueillait tous

les liquides écoulés de la nitrière. Dans ces conditions, la nitrière ne fonctionnait plus qu'avec l'épaisseur de deux compartiments au lieu de trois. La teneur moyenne du liquide écoulé en azote ammoniacal restant, pendant une période de dix jours de travail, a été de 0 gr. 702. Nous avons alors supprimé les compartiments du milieu et du bas en plaçant la plaque métallique sous le compartiment supérieur : la nitrière ne fonctionnait donc plus qu'avec l'épaisseur d'un seul compartiment. Pendant une nouvelle période de dix jours, les liquides écoulés titraient en moyenne 1 gr. 093 d'azote ammoniacal restant par litre.

Cet essai montre que l'oxydation de l'ammoniaque se poursuit à peu près régulièrement dans chaque compartiment. Un quart environ de l'ammoniaque est nitrifié dans le premier, un second quart l'est dans le deuxième, un troisième quart l'est dans le troisième. Il est probable qu'en augmentant l'épaisseur du lit on serait arrivé à une oxydation presque complète ; mais l'installation ne se prêtait pas à cette expérience. Elle pourrait d'ailleurs être réalisée par une réduction correspondante de l'affusion journalière, mais elle ne présente pas d'intérêt pratique, puisque les quantités d'ammoniaque non oxydée rentrent dans le travail. D'autre part l'oxydation de l'ammoniaque en milieu très étendu devient toujours plus lente : on n'a donc aucun avantage à pousser l'oxydation jusqu'à ses dernières limites.

Ajoutons enfin que pour nous rendre compte du fonctionnement des diverses parties des lits, nous avons procédé, au cours des essais avec la case 4, à des analyses des atmosphères intérieures. Il était, en effet, très intéressant de savoir si l'oxygène était assez abondant dans la masse tourbeuse, malgré son absorption par le ferment pour l'oxydation de l'ammoniaque et le dégagement d'acide carbonique provenant de la décomposition du calcaire par l'acide nitrique formé. Les prélèvements ont été faits au moyen d'une pipette à gaz, par l'intermédiaire d'un tube qu'on enfonceait plus ou moins dans le lit, on commençait par purger le tube au moyen de deux ou trois absorptions, puis on prélevait 1 c. c. 5 de gaz environ. Cette très petite quantité était analysée par les méthodes et au moyen des appareils employés par MM. Schlœsing fils et Laurent

dans leurs belles recherches sur la fixation de l'azote par les légumineuses. Le taux d'acide carbonique, dans les couches les plus profondes, a varié entre 0,66 et 0,42 pour 100; la teneur en oxygène a varié de 20,5 à 20,7 p. 100. On voit que l'atmosphère interne des nitrrières se renouvelle parfaitement par diffusion et que l'oxygène y est toujours assez abondant pour que la nitrification puisse s'y exercer normalement.

CASE N° 6. — Cette case, chargée de pouzzolanes du Puy, a été mise en route comme les cases 4 et 5. La marche de la case pendant la mise en route a été sensiblement la même que celle de la case n° 3, la meilleure des cases de tourbe. L'affusion journalière de 120 litres par mètre cube de pouzzolanes, atteinte au bout de cinq semaines, a pu être maintenue avec d'excellents résultats pendant cinq nouvelles semaines et le titre en azote nitrique du liquide d'arrosage a pu être rapidement porté à 5 gr. 7 par litre. Mais à ce moment l'azote ammoniacal restant a commencé à augmenter et l'affusion a dû être réduite à 80 litres, puis à 67 litres par mètre cube de pouzzolanes et par jour.

L'alimentation en sel ammoniacal a été faite, pour cette case, avec une solution de nitrate d'ammoniaque provenant de la double décomposition par le sesquicarbonate d'ammoniaque d'une partie de la solution nitrifiée écoulee de la case.

Cette case a fonctionné pendant deux mois avec une solution d'arrosage titrant 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, comme les cases de tourbe, puis la richesse du liquide d'arrosage a été portée pendant deux mois à 6 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, pendant deux nouveaux mois à 7 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal et enfin pendant les deux derniers mois à 8 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. Après ces dix mois de fonctionnement, la case a été arrêtée.

Comme pour les cases 4 et 5, on a tenu pendant toute la période de fonctionnement un contrôle régulier de toutes les entrées et de toutes les sorties d'azote, afin de pouvoir dresser le bilan du rendement d'une nitrrière à pouzzolanes et le comparer avec celui d'une nitrrière tourbeuse. La marche a été

absolument conduite comme celle des cases 4 et 5 et la reconstitution des liquides d'arrosage se faisait par la même méthode, chaque fois que le bac supérieur d'alimentation était vide.

Le tableau suivant résume la marche de la case 6 dans toute cette période.

Si nous calculons le rendement pratique de cette nitrière à pouzzolanes comme nous avons calculé le rendement de la nitrière tourbeuse n° 4, nous voyons que l'azote ammoniacal introduit dans les dix mois de fonctionnement a été de 21 kg. 434 et l'azote nitrique de 21 kilogr. 106. Or, on a récupéré 37 kilogr. 108 d'azote nitrique et 1 kilogr. 461 d'azote ammoniacal non oxydé, soit en tout 38 kilogr. 569. Il faut ajouter à ce chiffre, pour établir le bilan de l'azote, les chiffres d'azote qui correspondent au liquide qui imbibe la masse à la fin de l'expérience. Les pouzzolanes retiennent environ 200 litres de liquide au mètre cube : le volume correspondant à la case de 775 litres est donc de 155 litres environ, à une teneur moyenne de $\frac{8,5 + 10,822}{2} = 9$ gr. 661 d'azote nitrique et de $\frac{1,5 + 0,380}{2}$

$= 0$ gr. 940 d'azote ammoniacal par litre. Les quantités correspondantes d'azote sont donc de 1 kilogr. 497 d'azote nitrique et de 0 kilogr. 146 d'azote ammoniacal. Nous retrouvons donc en tout 38 kilogr. 605 d'azote nitrique et 1 kilogr. 607 d'azote ammoniacal. Il en résulte que 21 kilogr. 434 — 1 kilogr. 607 $= 19$ kilogr. 827 d'azote ammoniacal ont donné 38 kilogr. 605 — 21 kilogr. 106 $= 17$ kilogr. 499 d'azote nitrique, ce qui correspond à un rendement de 88,26 p. 100, chiffre légèrement supérieur à celui que nous avons obtenu avec la tourbe.

En prenant la moyenne des liquides écoulés dans la période de marche normale avec la solution à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, on peut calculer que la teneur moyenne des liquides écoulés a été de 7 gr. 636 d'azote nitrique et de 0 gr. 348 d'azote ammoniacal par litre, sous un volume moyen de 315 litres par période de débit d'un bac de 365 litres de solution d'arrosage. On voit que si le liquide écoulé était ramené au volume primitif de 365 litres, il titrerait 6 gr. 588 d'azote nitrique et 0 gr. 300 d'azote ammoniacal. Donc 6 gr. 588 — 5 gr. 7 $= 0$ gr. 888 d'azote nitrique ont été obtenus au moyen de 1 gr. 300 — 0 gr. 300 $= 1$ gr.

PÉRIODES	AFFUSIONS par mètre cube de pouzzolane et par jour, en litres	AZOTE INTRODUIT en kilogr.			TENEUR DU LIQUIDE			VOLUME EN LITRES			AZOTE RÉCUPÉRÉ A LA SORTIE en kilogr.		
		par le sulfate d'ammo- niaque	PAR LE NITRATE D'AMMONIAQUE		D'ARROSAGE en gr., par litre	ÉCOULÉ en gr., par litre, en fin de période		repris pour la reconsti- tution du bac de 365 litres de solution d'arro- sage à la fin de la période	sorti et envoyé à l'extrac- tion	nitrique	ammonia- cal	total	
			nitrique	ammonia- cal		nitrique	ammonia- cal						
													nitrique
23-3 sept. 1917	40	0,164	"	"	"	0,45	0,272	traces.	312	"	"	"	0,423
4-9 —	80	0,164	"	"	0,23	0,45	0,622	traces.	117	198	0,423	0,000	0,423
10-13 —	120	"	0,164	0,164	0,65	0,45	1,009	traces.	217	400	0,401	0,000	0,401
14-16 —	160	"	0,164	0,164	1,05	0,45	1,475	traces.	247	71	0,405	0,000	0,405
17-18 —	240	"	0,164	0,164	1,45	0,45	1,922	traces.	266	54	0,404	0,000	0,404
19-20 —	240	"	0,164	0,164	1,85	0,45	2,346	0,010	281	41	0,096	0,000	0,096
21-24 —	120	"	0,161	0,161	2,25	0,45	2,785	0,020	234	91	0,253	0,002	0,255
25-27 —	160	"	0,324	0,324	2,65	0,9	3,464	0,020	228	96	0,333	0,002	0,335
28-30 —	160	"	0,324	0,324	3,05	0,9	4,462	0,065	196	122	0,508	0,008	0,516
1 ^{er} -4 octob.	120	"	0,462	0,462	3,5	1,3	4,924	0,080	203	117	0,576	0,009	0,585
5-8 —	120	"	0,458	0,458	4,0	1,3	5,550	0,194	218	400	0,555	0,049	0,574
9-12 —	120	"	0,432	0,432	4,5	1,3	5,964	0,303	245	77	0,459	0,023	0,482
13-16 —	120	"	0,400	0,400	5,1	1,3	6,662	0,318	253	67	0,446	0,021	0,467
17-20 —	120	"	0,394	0,394	5,7	1,3	7,307	0,327	230	88	0,643	0,029	0,672
21-24 —	120	"	0,399	0,399	5,7	1,3	7,543	0,338	223	96	0,724	0,032	0,736
25-28 —	120	"	0,399	0,399	5,7	1,3	7,645	0,342	220	93	0,711	0,032	0,743
29-1 ^{er} nov.	120	"	0,399	0,399	5,7	1,3	7,663	0,342	219	95	0,728	0,032	0,760
2-5 —	120	"	0,400	0,400	5,7	1,3	7,689	0,339	218	93	0,745	0,032	0,747
6-9 —	120	"	0,401	0,401	5,7	1,3	7,664	0,348	221	96	0,730	0,033	0,763
10-13 —	120	"	0,398	0,398	5,7	1,3	7,688	0,331	248	94	0,723	0,031	0,754
14-17 —	120	"	0,402	0,402	5,7	1,3	7,600	0,345	221	96	0,730	0,033	0,763
18-21 —	120	"	0,406	0,406	5,7	1,3	7,600	0,345	221	96	0,730	0,033	0,763

4-9	80	»	0,401	5,1	1,5	4,116	0,555	218	94	0,126	0,034	0,456
10-15	—	»	0,402	5,7	4,3	7,672	0,369	220	95	0,729	0,035	0,764
16-21	—	»	0,393	5,7	4,3	7,723	0,354	248	67	0,517	0,024	0,541
22-28	—	»	0,460	6,5	4,5	8,100	0,361	236	80	0,618	0,029	0,677
29-4 janv. 1918	67	»	0,462	6,5	4,5	8,621	0,385	222	96	0,838	0,037	0,865
5-11	—	»	0,462	6,5	4,5	8,702	0,361	219	96	0,835	0,035	0,870
12-18	—	»	0,468	6,5	4,5	8,675	0,402	224	94	0,815	0,038	0,853
19-25	—	»	0,459	6,5	4,5	8,543	0,412	224	98	0,837	0,040	0,877
26-1 fév.	—	»	0,455	6,5	4,5	8,722	0,341	218	96	0,837	0,033	0,870
2-8	—	»	0,473	6,5	4,5	8,702	0,363	219	99	0,861	0,036	0,897
9-15	—	»	0,468	6,5	4,5	8,716	0,375	219	96	0,837	0,036	0,873
16-22	—	»	0,465	6,5	4,5	8,742	0,384	262	56	0,490	0,022	0,512
23-1er mars	—	»	0,447	7,5	4,5	9,211	0,380	248	69	0,636	0,026	0,662
2-8	—	»	0,453	7,5	4,5	9,784	0,398	233	87	0,851	0,035	0,886
9-15	—	»	0,455	7,5	4,5	9,774	0,405	234	81	0,792	0,033	0,825
16-22	—	»	0,453	7,5	4,5	9,742	0,412	235	81	0,789	0,033	0,822
23-29	—	»	0,451	7,5	4,5	9,745	0,417	236	81	0,787	0,034	0,821
30-5 avril	—	»	0,449	7,5	4,5	9,794	0,375	233	87	0,852	0,033	0,885
6-12	—	»	0,460	7,5	4,5	9,831	0,352	231	89	0,875	0,031	0,906
13-19	—	»	0,466	7,5	4,5	9,802	0,357	232	86	0,843	0,031	0,874
20-26	—	»	0,465	7,5	4,5	9,782	0,376	272	44	0,430	0,017	0,447
27-3 mai	—	»	0,445	8,5	4,5	10,263	0,351	258	64	0,657	0,022	0,679
4-10	—	»	0,457	8,5	4,5	10,830	0,415	245	76	0,825	0,032	0,855
11-17	—	»	0,446	8,5	4,5	10,847	0,406	245	75	0,814	0,030	0,844
18-24	—	»	0,448	8,5	4,5	10,822	0,413	245	72	0,779	0,030	0,809
25-31	—	»	0,446	8,5	4,5	10,868	0,374	243	73	0,793	0,027	0,820
1er-7 juin	—	»	0,447	8,5	4,5	10,928	0,365	242	79	0,863	0,029	0,892
8-14	—	»	0,459	8,5	4,5	10,814	0,418	246	75	0,811	0,031	0,842
15-21	—	»	0,445	8,5	4,5	10,841	0,402	245	73	0,791	0,029	0,820
22-28	—	»	0,449	8,5	1,5	10,822	0,380	»	320	3,463	0,122	3,585
Totaux . .	»	0,328	21,406	»	»	»	»	»	»	37,108	1,404	38,569

d'azote ammoniacal, ce qui correspond, pour cette période, à un rendement de 88,8 p. 100. Le même calcul, appliqué aux périodes d'arrosage avec la solution à 6 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, donne pour le rendement dans ces périodes le chiffre de 88,5 p. 100. Pour les périodes d'arrosage avec la solution à 7 gr. 5 d'azote nitrique et à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, le chiffre du rendement ainsi calculé est de 87,5 p. 100. Enfin pour les périodes d'arrosage avec la solution à 8 gr. 5 d'azote nitrique et à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, on trouve de même 85 p. 100.

Il semble donc que le rendement à la transformation s'abaisse un peu quand on élève la concentration en nitrate. Mais nous estimons qu'il n'y a pas là une règle générale, car nous avons vu, pour la case 4, qu'on pouvait obtenir un rendement de plus de 87 p. 100 avec des solutions beaucoup plus concentrées, lorsque le rendement avec les solutions étendues, calculé par la méthode, donnait 86,3 p. 100. Nous verrons plus loin que nous avons obtenu, avec la case 7, des résultats analogues.

CASE N° 7. — Cette case, chargée de pouzzolanes de Grave-noire, a été mise en route de la même manière que la précédente. La seule différence a été dans l'alimentation en sel ammoniacal qui a été faite avec une solution de nitrate d'ammoniaque provenant de la double décomposition d'une partie de la solution écoulée de cette case, par le sulfate d'ammoniaque au lieu du sesquicarbonate d'ammoniaque employé pour la case 6. Les résultats au début ont été très voisins de ceux de la case précédente. L'affusion de 120 litres par mètre cube de tourbe et par jour a été maintenue cinq semaines, puis elle a été réduite à 80 litres par suite de l'augmentation progressive de l'azote ammoniacal restant. En général, la marche de cette case a été assez régulière et satisfaisante, mais moins bonne cependant que celle de la case 6. La double décomposition par le sulfate d'ammoniaque donne donc des résultats inférieurs à la double décomposition par le sesquicarbonate d'ammoniaque, probablement à cause de la grande quantité de sulfate de chaux qui entre en solution et vient cristalliser, par évaporation lente, sur les grains du support.

Après deux mois de fonctionnement avec une solution

d'arrosage à 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre, on a élevé progressivement le titre en azote nitrique de cette case, en faisant sans cesse repasser les liquides écoulés, après addition d'une nouvelle dose de nitrate d'ammoniaque pour ramener toujours à 1 gr. 5 par litre la teneur en azote ammoniacal du liquide d'arrosage. Le titre de la solution d'arrosage a été ainsi élevé à 18 grammes d'azote nitrique et à 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. La moyenne des solutions écoulées pendant une période de fonctionnement d'un mois a été de 21 gr. 644 d'azote nitrique et de 0 gr. 444 d'azote ammoniacal par litre, sous un volume moyen de 320 litres par période de débit d'un bac de 365 litres de solution d'arrosage. Le liquide ramené au volume primitif de 365 litres titrerait donc 18 gr. 976 d'azote nitrique et 0 gr. 389 d'azote ammoniacal par litre. Donc 0 gr. 976 d'azote nitrique ont été formés au moyen de 1 gr. 5 — 0 gr. 389 = 1 gr. 111 d'azote ammoniacal, ce qui correspond à un rendement de 87,8 p. 100. Les solutions écoulées tiraient près de 13 p. 100 de nitrate de chaux.

La marche de cette nitrière a été arrêtée, au moment de l'armistice, après un fonctionnement de plus de quinze mois.

Des analyses des atmosphères intérieures de cette nitrière de pouzzolanes ont été effectuées comme sur la case tourbeuse n° 4. Le taux de l'acide carbonique dans les couches les plus profondes a varié entre 0,22 et 0,32 p. 100 et la teneur en oxygène a varié de 20,6 à 20,9 p. 100. L'atmosphère interne de ces nitrières de pouzzolanes se renouvelle donc parfaitement comme celle des nitrières tourbeuses, bien que les grains du support soient beaucoup plus fins.

4° Conclusions relatives aux essais semi-industriels.

Les essais semi-industriels que nous venons de décrire permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° La marche industrielle continue et prolongée des nitrières à tourbe ou à pouzzolane est parfaitement réalisable, à condition de ne pas chercher à exagérer la production par une alimentation que les appareils ne peuvent pas supporter longtemps.

2° Toutes les conclusions que nous avons formulées dans

notre premier mémoire ont été vérifiées par nos expériences semi-industrielles. La marche a été la même en grand qu'en petit.

3° La mise en marche doit avoir lieu lentement, d'après les méthodes que nous avons indiquées; les affusions doivent être progressivement réduites au fur et à mesure que le titre en nitrate de chaux s'élève et elles ne doivent pas dépasser pratiquement, en marche courante et prolongée, 80 litres par mètre cube de support avec une solution d'arrosage renfermant 5 gr. 7 d'azote nitrique et 1 gr. 3 d'azote ammoniacal par litre. Encore cette affusion laisse-t-elle, dans les conditions les plus favorables, 20 à 25 p. 100 de l'azote ammoniacal non oxydé. Des affusions de 60 litres seraient certainement préférables. Avec des solutions d'arrosage beaucoup plus concentrées en nitrate de chaux, l'affusion journalière ne doit même pas dépasser 50 litres par mètre cube de support et par jour, en marche industrielle prolongée.

4° Si ces conditions d'affusions réduites sont réalisées, la marche des nitrères est extrêmement régulière; elle peut être prolongée très longtemps, et on peut obtenir des liquides titrant 11 à 13 p. 100 de nitrate de chaux, par arrosage avec des solutions renfermant 15 à 18 grammes d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, la concentration par évaporation dans le passage dans la nitrère étant environ de 12 p. 100. La marche industrielle ressemble alors beaucoup à celle de l'oxydation de l'alcool dans une fabrique de vinaigre par le procédé allemand.

5° Le rendement pratique à la transformation de l'azote ammoniacal en azote nitrique est environ de 87 à 88 p. 100.

6° Dans ces conditions, on peut obtenir par mètre cube de support environ 50 grammes d'azote nitrique par jour, soit environ 286 grammes de nitrate d'ammoniaque ou 293 grammes de nitrate de chaux. Une *nitrère d'un hectare, sous une épaisseur de lit de 1 m. 80, soit 18.000 mètres cubes, donnerait donc par vingt-quatre heures un peu plus de cinq tonnes de nitrate d'ammoniaque ou de nitrate de chaux. Ce chiffre représente environ la dix-huitième partie du chiffre qu'on aurait pu déduire des expériences de laboratoire de Muntz et Lainé (quatre-vingt-dix tonnes de nitrate par hectare et par jour).* La question se

présente donc, au point de vue industriel, sous un jour beaucoup moins favorable que ces expériences pouvaient le faire supposer et elle perd de ce fait beaucoup de son intérêt.

7° La tourbe donne de moins bons résultats que les pouzzolanes, surtout dans la mise en route. Quand les appareils sont en plein fonctionnement, les deux supports sont à peu près équivalents, avec un léger avantage en faveur des pouzzolanes. Mais les solutions obtenues sont rouges et troubles avec la tourbe, incolores et très belles avec les pouzzolanes. Si nous ajoutons à ces observations celles que nous avons faites dans notre premier mémoire au sujet des difficultés de manutention de la tourbe et d'établissement des lits, il apparaît nettement que pour la constitution des nitrères les pouzzolanes sont beaucoup plus avantageuses que la tourbe.

8° L'alimentation en sel ammoniacal peut se faire avec le liquide provenant de la double décomposition de la solution nitrifiée de nitrate de chaux par le sulfate ou le sesquicarbonate d'ammoniaque. Mais, en dehors des avantages que présente le sesqui-carbonate d'ammoniaque pour la régénération continue du calcaire indispensable, l'expérience semi-industrielle montre que la marche est meilleure avec l'emploi du sesquicarbonate d'ammoniaque, très probablement à cause de la suppression de l'encrassement que le sulfate de chaux produit peu à peu dans les lits. Tous les avantages sont donc en faveur de la marche au sesqui-carbonate d'ammoniaque.

9° L'air se renouvelle très facilement à l'intérieur des nitrères : leur atmosphère interne renferme toujours assez d'oxygène pour que la nitrification puisse s'y exercer normalement.

5° Méthodes de réalisation industrielle et aperçu économique.

Les études qui précèdent permettent de donner un aperçu économique du fonctionnement d'une installation industrielle basée sur les résultats obtenus.

On peut compter travailler avec des solutions d'arrosage renfermant 18 gr. 5 d'azote nitrique et 1 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre, en donnant des affusions de 50 litres par mètre

cube de pouzzolanes et par jour. Dans ces conditions, l'azote ammoniacal restant se tiendra aux environs de 6 gr. 32 par litre dans le liquide nitrifié, supposé ramené à son volume primitif. On oxydéra donc par mètre cube et par jour $4,18 \times 50 = 59$ grammes d'azote ammoniacal. Le rendement à la transformation étant, comme nous l'avons vu, de 87 à 88 p. 100, on peut admettre, pour tenir compte des pertes ultérieures d'extraction, un rendement de 85 p. 100 à la production finale. La nitrifière livrera donc environ 50 grammes d'azote nitrique par mètre cube et par jour, soit en chiffres ronds 285 grammes de nitrate d'ammoniaque. Pour une production de dix tonnes de nitrate d'ammoniaque par jour, il faudra donc compter sur 36.000 mètres cubes de supports.

On formera donc, au moyen de pouzzolanes et par la méthode indiquée pour les cases, des lits nitrificateurs circulaires de 15 mètres de diamètre sur 4 m. 80 de hauteur, ce qui correspond à un volume de 318 mètres cubes. Il faudra 114 appareils semblables pour arriver à la production voulue, mais il vaut mieux compter sur 125 appareils pour prévoir l'arrêt momentané de certains d'entre eux.

Ces appareils couvriront une superficie de 5 hectares, passages compris : ils devront être placés dans des hangars fermés et maintenus par chauffage à une température voisine de 28°. Chaque appareil sera alimenté par un Sprinkler.

Étudions le fonctionnement d'un de ces appareils en marche continue, ce qui nous permettra d'appliquer ensuite les chiffres à l'installation entière.

L'appareil recevra $318 \times 50 = 15.900$ litres par vingt-quatre heures d'une solution à 18 gr. 5 d'azote nitrique et 4 gr. 5 d'azote ammoniacal par litre. A raison d'une chasse par heure, chaque chasse comprendra $\frac{15.900}{24} = 662$ l. 5. Si la durée de

l'écoulement est de deux minutes, le Sprinkler débitera $\frac{662,5}{2} = 331$ l. 25 à la minute ou 5 l. 52 à la seconde, ce qui est parfaitement réalisable. L'arrosage par mètre carré de surface et par chasse sera de $\frac{662,5}{476,5} = 3$ l. 75, ce qui peut convenir.

En comptant une évaporation de 10 p. 100 pendant le pas-

sage dans la nitrière et un rendement de 89 p. 100 à la transformation, il s'écoulera par jour, de la nitrière, 14.310 litres de liquide nitrifié titrant 21 gr. 72 d'azote nitrique et 0 gr. 355 d'azote ammoniacal, qu'on enverra au bac de liquides nitrifiés. Il sortira donc de la nitrière $21,72 \times 14,310 = 310$ kg. 8 d'azote nitrique et $0,355 \times 14,310 = 5$ kg. 08 d'azote ammoniacal par vingt-quatre heures.

On doit reconstituer 13.900 litres de liquide d'arrosage à 18 kg. 5 d'azote nitrique et 1 kg. 5 d'azote ammoniacal par mètre cube, par addition de nitrate d'ammoniaque provenant de la double décomposition de la solution de nitrate de chaux par le sesquicarbonate d'ammoniaque.

On aura, en désignant par V le volume à reprendre sur le liquide écoulé et par c les quantités d'azote nitrique et d'azote ammoniacal (ces deux quantités sont égales), à ajouter sous forme de nitrate d'ammoniaque :

$$\begin{aligned} 13,9 \times 18,5 &= V \times 21,72 + c. \\ 13,9 \times 1,5 &= V \times 0,355 + c. \end{aligned}$$

On en tire :

$$V = 12 \text{ m. c. } 63 \text{ et } C = 19 \text{ kilogr. } 35.$$

Pour chaque chasse, on prélèvera donc $\frac{12.650}{24} = 527$ litres du bac à liquide nitrifié, le reste sera constitué par de l'eau et de la solution de nitrate d'ammoniaque, de manière à reconstituer le volume de 662 l. 5 de chaque chasse.

La partie envoyée à la double décomposition sera représentée par $14.310 - 12.650 = 1.660$ litres renfermant $1.660 \times 21,72 = 36$ kg. 055 d'azote nitrique et $1.660 \times 0,355 = 0$ kg. 589 d'azote ammoniacal. Pour la double décomposition, il faudra donc ajouter théoriquement $36,055 - 0,589 = 35$ kg. 466 d'azote ammoniacal, soit $\frac{35,466 \times 127}{28} = 160$ kg. 86 de sesquicarbonate d'ammoniaque par vingt-quatre heures. Cette quantité sera ajoutée directement dans le bac de double décomposition.

Nous devons reprendre, sur la partie inférieure, précipitée, tout le calcaire, 19 kg. 35 d'azote ammoniacal et 19 kg. 35

d'azote nitrique, ce qui constituera sensiblement un volume de 900 litres. Ces 900 litres, divisés en 24 chasses, donnent pour chaque chasse environ 38 litres de solution.

Pour reconstituer les 662 lit. 5 de chaque chasse, on aura donc : 527 litres du bac à liquides nitrifiés, 38 litres du bac de double décomposition, contenant le calcaire régénéré, et le reste sera constitué par de l'eau.

Il restera, pour la production, dans la partie supérieure claire du bac de double décomposition $36,055 - 19,35 = 16$ kg. 705 d'azote nitrique et 16 kilogr. 705 d'azote ammoniacal correspondant à 95 kilogr. 46 de nitrate d'ammoniaque, soit à 90 kilogrammes en chiffres ronds en tenant compte de la perte de rendement à l'extraction.

Le volume de liquide à évaporer sera donc de $1.660 - 900$ lit., soit 760 litres par vingt-quatre heures.

La consommation d'eau pour la reconstitution du liquide d'arrosage sera sensiblement de 100 litres par chasse, soit 2 m. c. 4 par vingt-quatre heures.

Ces données nous permettent de dresser de la façon suivante le projet d'installation industrielle pour une production de 10 tonnes de nitrate d'ammoniaque par jour.

NOMBRE DE LITS DE 15 MÈTRES DE DIAMÈTRE : 125. — On les alimentera par groupes de 25 : il y aura donc 5 groupes.

BACS DE CHASSES. — 5 bacs de chasses, à agitateurs, alimentant chacun une série de 25 Sprinklers. Chacun de ces bacs répartira par chasse $662 \times 25 = 16$ m. c. 56, le remplissage se faisant en cinquante minutes et la chasse en deux minutes, ce dernier chiffre représentant un écoulement de 138 litres à la seconde. On disposera donc 5 bacs de 20 mètres cubes, alimentés à la fois par les bacs à liquides nitrifiés, les bacs de double décomposition et les baches à eau.

BACS A LIQUIDES NITRIFIÉS. — Il s'écoulera par vingt-quatre heures, des 114 appareils en fonctionnement, 1.631 mètres cubes de liquide nitrifié. On prendra donc 2 bacs de 1.800 mètres cubes, avec agitateurs où se réuniront alternativement les liquides du jour et ceux du jour suivant. Ces bacs, carrés,

pourraient avoir 10 mètres de profondeur sur 13 m. 50 de côté; l'un d'eux servirait à l'alimentation des bacs de chasse et des bacs de double décomposition, tandis que l'autre se remplirait.

BACS DE DOUBLE DÉCOMPOSITION. — Ces bacs recevront par jour 489 mètres cubes de liquide nitrifié. On prendra 2 bacs de 250 mètres cubes, pour permettre le dépôt et le prélèvement alternatifs. Leur forme sera légèrement conique pour l'évacuation du carbonate de chaux précipité : ils porteront au milieu une prise pour l'évacuation du liquide clair et seront munis d'un agitateur à descente progressive. Ces bacs seront alimentés par les bacs à liquide nitrifié. Dès qu'un bac sera plein, il subira la précipitation par le sesquicarbonate d'ammoniaque; le liquide clair constituant la production sera envoyé à l'évaporation : le liquide restant, agité pour mettre le carbonate de chaux en suspension, servira pour reconstituer les chasses. Pendant ce temps, le second bac recevra les liquides à décomposer venant des nitrières.

BÂCHES À EAU. — Il faudra 273 mètres cubes par vingt-quatre heures, plus les lavages : on prendra 2 bâches de 75 mètres cubes pour un volant d'environ douze heures.

APPAREIL À ÉVAPORER. — On aura à évaporer $760' \times 114' = 86$ m. c. 64 d'eau par jour. Il faudra donc un appareil susceptible d'évaporer 100 mètres cubes par vingt-quatre heures correspondant à un triple effet d'une sucrerie de 100 tonnes de betteraves par jour (120 mètres carrés de surface environ).

SURFACE TOTALE NÉCESSAIRE. — Il faudra 5 hectares pour les nitrières, 1.000 mètres carrés pour le bâtiment des bacs de chasse, de liquide nitrifié, de double décomposition et les bâches à eau, 8.000 mètres carrés pour les hangars, magasins, salles de machines et de pompes, salles d'évaporation et de cristallisation, 2 hectares pour les cours, dégagements, laboratoire, bureaux, etc. Total, environ 8 hectares.

VOLANT DE CARBONATE D'AMMONIAQUE ET DE CARBONATE DE CHAUX POUR LE CHARGEMENT. — Le liquide en circulation représentera

$15,9 \times 114 = 1.812$ mètres cubes à 20 kilogrammes d'azote total, soit 36.240 kilogrammes d'azote ou 164.000 kilogrammes de carbonate d'ammoniaque.

Le liquide d'imbibition des appareils, à raison de 200 litres par mètre cube de pouzzolanes, représentera $0,2 \times 36.000 = 7.200$ mètres cubes à 20 kilogrammes d'azote, soit 144.000 kilogrammes d'azote ou 653.000 kilogrammes de carbonate d'ammoniaque.

Le total donne 817.000 kilogrammes *pour le volant* de carbonate d'ammoniaque. C'est une fraction considérable du capital à engager.

Enfin le volant de calcaire à introduire dans les litres représentera, à raison de 16 kilogrammes par mètre cube de support, 576.000 kilogrammes de blanc de Meudon.

Ces éléments permettent de donner un aperçu économique du fonctionnement d'une telle installation.

Le capital nécessaire peut être évalué à 3 millions pour le terrain et les bâtiments, 700.000 francs pour la pouzzolane (36.000 mètres cubes à 20 francs) et 1 million pour le volant de carbonate d'ammoniaque et de craie, soit 5 millions en chiffres ronds.

Évaluons d'autre part les frais d'exploitation. La main-d'œuvre demandera, en dehors de la direction, un chimiste chef de fabrication, 2 contremaîtres et 20 hommes. On peut donc évaluer les salaires à 600 francs par jour.

Les 86 m. c. 64 d'eau à évaporer par jour demanderont, en triple effet, à raison de 1 kilogramme de vapeur par 2 kilogr. 85 d'eau vaporisée, environ 30.000 kilogrammes de vapeur ou 4.000 kilogrammes de charbon, soit 400 francs en comptant le charbon à 100 francs la tonne (1). Le chauffage des nitrières et la force motrice (moteur à vapeur de 60 chevaux) consommeront sensiblement une quantité égale.

Nous arrivons donc à 800 francs de charbon par vingt-quatre heures. Les frais généraux et les frais divers peuvent être évalués à 100 p. 100 des salaires, soit 600 francs par jour.

(1) Ce chiffre correspond à une vaporisation de 7 kilogr. 5 par kilogramme de charbon qu'il serait bien difficile d'obtenir dans les conditions actuelles. Nous nous plaçons donc dans des conditions très favorables.

Le total des frais d'exploitation se monterait donc à 2.000 fr. par jour, pour une production de 10 tonnes de nitrate d'ammoniaque, soit 200 francs à la tonne.

Il est évident que si nous envisageons l'utilisation, pour la production du nitrate, de l'azote ammoniacal provenant des sels ordinairement vendus comme engrais sur le marché, l'opération, au point de vue commercial, serait irréalisable. Le kilogramme d'azote nitrique se vend en effet, dans les engrais, sensiblement au même prix que le kilogramme d'azote ammoniacal. Or notre nitrate biologique serait grevé de 200 francs de frais à la tonne et de la perte de rendement à la transformation et à l'extraction, c'est-à-dire de 15 kilogrammes de nitrate pour 85 kilogrammes de nitrate produit. Le prix de revient serait donc forcément supérieur au prix de vente du produit sur le marché. Par exemple, nous avons vu que l'alimentation en carbonate d'ammoniaque, pour une production de 10 tonnes de nitrate d'ammoniaque par jour, demanderait 160 kilogr. $86 \times 114 = 18.338$ kilogrammes de carbonate d'ammoniaque par vingt-quatre heures. En comptant le kilogramme d'azote à 5 francs, soit le carbonate d'ammoniaque à 1.100 francs la tonne, on aurait une dépense de 20.000 francs environ par tonne de nitrate d'ammoniaque produit. Le nitrate reviendrait donc à 2.200 francs la tonne, sans compter l'intérêt du capital engagé et l'amortissement. Or le nitrate d'ammoniaque, chimiquement pur, compté à 5 francs le kilogramme d'azote, coûterait 1.750 francs, le cours actuel du nitrate d'ammoniaque ordinaire à 32-34 p. 100 d'azote étant de 1.600 francs.

Ainsi envisagée, la méthode ne pourrait être rangée que parmi les nombreux procédés, nés de la guerre, dans lesquels la nécessité de produire coûte que coûte faisait laisser de côté les considérations relatives au prix de revient. Elle serait parfaitement réalisable dans ces conditions et aurait pu présenter de l'intérêt, en l'absence de réapprovisionnements suffisants en nitrate naturel.

Il faudrait, pour que la fabrication soit commercialement possible par cette méthode, utiliser de l'ammoniaque synthétique, de manière à obtenir du carbonate d'ammoniaque dont le kilogramme d'azote ne dépasserait pas, par exemple, le prix de 3 francs à 3 fr. 25 dans les conditions économiques

actuelles. Ce serait d'ailleurs le seul moyen de se procurer en quantités suffisantes le carbonate d'ammoniaque, car ce sel n'est pas un produit industriel courant. On arriverait alors à produire du nitrate de chaux ou du nitrate d'ammoniaque à un prix qui pourrait rivaliser avec les prix commerciaux actuels. Mais il n'est pas du tout démontré que la transformation de cette ammoniaque synthétique en nitrate d'ammoniaque par les procédés chimiques modernes, électriques ou catalytiques, ne serait pas plus économique que son oxydation par voie biologique. Il est même très probable qu'il en serait ainsi.

Il n'en était pas moins utile de fixer d'une façon précise les possibilités industrielles de fabrication des nitrates par voie microbienne. On voit qu'elles sont beaucoup plus réduites que les travaux de Müntz et Lainé pouvaient le faire espérer.

Ces études ont été faites à l'Institut Pasteur, dans le service de M. le D^r Louis Martin, qui a bien voulu mettre à ma disposition, avec la plus grande bienveillance, toutes les ressources nécessaires pour les mener jusqu'à leur terme. Qu'il veuille accepter ici l'expression sincère de ma reconnaissance.

ÉTUDE SUR LA FLOCCULATION DES EXTRAITS ALCOOLIQUES D'ORGANES PAR LES SÉRUMS NORMAUX ET LES ANTISÉRUMS

par E. CÉSARI.

On sait que les cellules et les humeurs organiques ne constituent généralement pas des entités antigènes simples, mais bien des assemblages d'éléments antigènes variés et diversement combinés (1). On sait aussi que des éléments antigènes identiques peuvent se rencontrer à la fois dans des cellules ou des humeurs d'origines différentes.

Injectées à des sujets d'une espèce étrangère à celle dont elles proviennent, cellules et humeurs doivent théoriquement provoquer, chez eux, la formation d'une série d'anticorps correspondant à la série des antigènes élémentaires contenus dans les cellules ou humeurs administrées. C'est ainsi que des antisérums préparés à l'aide de cellules ou d'humeurs de provenances diverses, mais possédant, parmi leurs constituants antigènes, un élément identique, peuvent renfermer, à côté des anticorps spéciaux répondant au groupe des antigènes particuliers à chacune de ces cellules ou de ces humeurs, un anticorps semblable répondant à l'élément antigène qui leur est commun.

Citons quelques exemples de ces communautés d'antigènes (2).

Le sérum des cobayes traités par des globules rouges de mouton acquiert des propriétés hémolytiques à l'égard des globules de mouton et des globules de bœuf. Réciproquement, le sérum des cobayes traités par des globules rouges de bœuf acquiert des propriétés hémolytiques à l'égard des globules de bœuf et des globules de mouton. Hématies de mouton et héma-

(1) M. NICOLLE, *Les antigènes et les anticorps*. Masson et C^{ie}, édit. Paris, 1920.

(2) M. NICOLLE et E. CÉSARI, Etudes sur la toxicité et l'hémotoxicité des sérums normaux et des antisérums. *Journ. de Physiol. et de Pathol. gén.*, juillet et septembre, 1914.

ties de bœuf possèdent, par conséquent, un élément antigène commun.

Le sérum des lapins traités par du sérum de mouton donne lieu à la formation d'un précipité lorsqu'il est mélangé à du sérum de mouton ou à du sérum de bœuf. Réciproquement, le sérum des lapins traités par du sérum de bœuf donne lieu à la formation d'un précipité lorsqu'il est mélangé à du sérum de bœuf ou à du sérum de mouton. Sérum de mouton et sérum de bœuf possèdent, par conséquent, un élément antigène commun.

Le sérum des lapins traités soit par des hématies ou du sérum de mouton, soit par des cellules du rein, de la rate ou du testicule de cobaye, soit par des cellules du rein de cheval ou de poule, acquiert un pouvoir hémolytique marqué vis-à-vis des globules rouges de mouton. Ces diverses cellules paraissent donc toutes contenir un élément antigène identique; c'est le fameux antigène Forssman dont nous allons, pour la clarté de notre exposé, résumer ici brièvement l'histoire.

En 1911, Forssman signale que si l'on injecte une émulsion de cellules provenant des organes du cobaye (rein, foie ou testicule) dans le péritoine du lapin, le sérum de l'animal traité devient fortement hémolytique à l'égard des globules de mouton. Les antisérums ainsi obtenus sont inactivés par le chauffage à 56° et réactivés par addition de complément de cobaye. L'anticorps hémolytique engendré par les cellules du rein de cobaye est fixé aussi bien par les cellules du rein de cobaye que par les hématies de mouton.

Les cellules des organes de cheval et de chat provoquent également, chez le lapin, l'apparition d'un anticorps hémolytique pour les hématies de mouton. Tous les antisérums préparés, chez le lapin, à l'aide de cellules des organes de cobaye et de cheval, ou à l'aide de globules rouges de mouton se montrent fortement toxiques pour le cobaye. Ces sérums ne sont pourtant pas hémolytiques pour les globules rouges de cet animal et ne précipitent pas en présence de son sérum.

Sans nous étendre sur les nombreux travaux (1), dont l'an-

(1) Cf. : J. FORSSMAN, Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolysine ohne Verwendung von Schafblut. *Biochem. Zeitsch.*, 37, 1911. — J. FORSSMAN et A. HINTZE, Die heterologe Toxizität der Antisera. *Biochem. Zeitsch.*, 44, 1912. — R. DOERR et F. WEINFURTER, Die primäre Toxizität der

tigène Forssman — qui sera désigné abrévativement désormais par l'initiale F — a fait l'objet depuis, nous rappellerons les principales notions actuellement acquises à son sujet.

Outre les hématies de mouton, les organes de cobaye, de cheval et de chat, l'antigène F a été rencontré dans les hématies de chèvre, le sérum de mouton, les organes de chien, de souris, de poule, de tortue, dans les branchies du brochet, de la carpe, de la tanche. On peut le déceler également dans des cellules microbiennes (pneumocoque).

L'antigène F ne se trouve pas dans les organes de l'homme, du bœuf, du porc, du lapin, du rat, du pigeon.

Seules les espèces dépourvues de l'antigène F (lapin, rat,...) fournissent des sérums hémolytiques pour les globules de mouton et toxiques pour le cobaye. Seules les espèces dont les cellules renferment l'antigène F (cobaye, poule,...) sont sensibles à l'action toxique des antisérums actifs.

Les propriétés antipœétiques de l'antigène F ne sont pas abolies par le chauffage (120°) et ne sont pas détruites par l'action de l'alcool. On peut extraire l'antigène F des cellules qui le contiennent par broyage et macération dans l'eau physiologique ou dans l'alcool fort.

On voit, par ce court aperçu, que l'antigène F présente, en plus de son ubiquité remarquable, deux particularités, résistance à la chaleur et solubilité dans l'alcool, qui lui assignent une place à part dans le monde des antigènes. S'agit-il là d'un antigène au sens étroit du mot? S'agit-il d'un antigène tout à fait exceptionnel, ou existe-t-il, dans les tissus organiques, d'autres éléments antigènes de même ordre?

On remarquera que la découverte de l'antigène F est due, pour une grande part, à une circonstance fortuite : sa présence dans les hématies de mouton. Rien n'interdit de supposer que des antigènes de la même sorte puissent siéger dans d'autres

Anticiweissera. *Centralbl. f. Bakter. I. Orig.*, 63. — FORSSMAN et FEX, Ueber heterologe Antisera, *Biochem. Zeitsch.*, 61, 1914. — DOERR et PICK, Untersuchungen über ein für die Art nicht spezifisches eiweissantigen zellulären Ursprungs. *Biochem. Zeitsch.*, 60, 1914. — M. NICOLLE et E. CÉSARI, *Loc. cit.* — J. FORSSMAN, Ueber die Identität oder Verschiedenheit gleichwirkender hämolytischer Antigene in einigen durch Verwandtschaftsreaktionen verbundenen Blutarten. *Biochem. Zeitsch.*, 77, 1916. — E. FRIEDBERGER et K. SUTO, Ueber heterogenetische Antigene und Antikörper. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, I. Orig., 28, 1919.

tissus, sans coexister nécessairement dans des globules rouges. Dans ce cas, leur existence risquera fort, semble-t-il, de passer inaperçue. Mais Sachs et Guth (1) ont montré récemment que le sérum des lapins traités par des cellules possédant l'antigène F donnait lieu à un phénomène de floculation lorsqu'il était mis en présence, *in vitro*, d'un extrait alcoolique préparé avec un organe contenant ledit antigène. Pour les auteurs allemands, la précipitation des globulines de l'antisérum, accusée par la floculation qui se produit au contact des lipoïdes de l'extrait, serait due à la conjugaison de l'anticorps et de l'antigène F. S'il en est ainsi, le caractère spécifique de la réaction devrait fournir un moyen, d'application générale, pour dépister les antigènes solubles dans l'alcool. C'est un point que nous avons voulu vérifier.

Dans les expériences rapportées ci-après, nous nous sommes donc proposé de voir si le phénomène de la séro-floculation était capable de révéler des réactions électives entre des anti-sérums obtenus à l'aide de différents organes et les extraits alcooliques de ces organes et de divers autres, pris chez plusieurs espèces animales. Subsidiairement, nous avons cherché à nous rendre compte si ces réactions offraient réellement un caractère spécifique et, dans l'affirmative, si cette spécificité se rapportait à l'interaction d'un antigène et d'un anticorps.

En plus de l'intérêt qu'elles pouvaient éventuellement présenter au point de vue de l'étude des communautés d'antigènes dans les tissus, ces recherches devaient acquérir ainsi une portée plus étendue en ce qu'elles se rattachaient à deux questions placées à l'ordre du jour des sciences biologiques : celle de la fonction antigène des lipoïdes et celle du mécanisme de la séro-floculation, en jeu, comme on sait, dans les réactions diagnostiques de la syphilis.

Le choix des matériaux (espèces animales et organes) utilisés dans cette étude nous a été dicté par une considération d'ordre pratique : l'application de la méthode à la répression des fraudes (Identification des viandes dans les mets préparés ou les produits de charcuterie soumis à la cuisson). Nous avons

(1) SACHS et F. GUTH, Eine spezifische Ausflockungsreaktion zum Nachweis der alkohollöslichen Receptoren des Hammelblutes und ihrer Antikörper. *Medizinische Klinik*, 8 février 1920.

donc employé systématiquement, en raison de ce but, les tissus des espèces animales de boucherie : cheval, bœuf, porc et mouton. Pour ne pas compliquer démesurément nos expériences, nous avons dû nous borner à préparer les antisérums, pour chacune de ces espèces, avec le sang, le foie et la rate. Tous les antisérums ont été obtenus chez le lapin, suivant la technique décrite ci-après.

PRÉPARATION DES ANTISÉRUMS. — Des lapins de 1.800 à 2.000 grammes reçoivent, trois jours de suite, dans le péritoine, 10 cent. cubes de sang défibriné ou d'une émulsion d'organe. Ils sont saignés, par voie carotidienne, six jours après la dernière injection.

Les émulsions d'organes étaient préparées avec du tissu prélevé aseptiquement dans l'organe frais, lavé plusieurs fois à l'eau physiologique, broyé finement au mortier et passé sur étamine. On diluait 3 grammes de tissu frais dans 30 cent. cubes d'eau physiologique.

Les sérums étaient chauffés à 55° pendant une demi-heure.

Par ce que l'on connaît sur l'antigène F, il était indiqué de rechercher, tout d'abord, si les sérums ainsi obtenus jouissaient de propriétés hémolytiques vis-à-vis de certains globules. Nous avons donc titré leur pouvoir hémolysant à l'égard des globules rouges de cheval, de bœuf, de porc et de mouton. Nous avons recherché parallèlement le pouvoir précipitant éventuel des antisérums vis-à-vis des sérums normaux des dites espèces. Ces épreuves préliminaires ont été faites d'après les techniques suivantes.

TITRAGE DU POUVOIR HÉMOLYTIQUE. — On verse, dans une série de tubes contenant 1 cent. cube d'une suspension globulaire au 1/20, 0 c. c. 025 de complément frais de cobaye et des quantités décroissantes d'antisérum (0 c. c. 1 — 0 c. c. 01 — 0 c. c. 001 — 0 c. c. 0001). On lit le résultat après une heure de séjour à l'étuve à 37°.

TITRAGE DU POUVOIR PRÉCIPITANT (MÉTHODE INDIRECTE). — On verse, dans une série de tubes contenant 1 cent. cube de l'antisérum, des quantités décroissantes de sérum normal (0 c. c. 1 — 0 c. c. 01 — 0 c. c. 001) diluées dans 1 cent. cube d'eau physiologique. On mélange et on lit le résultat après vingt-quatre heures de séjour à la température du laboratoire.

Les résultats de ces différents titrages sont inscrits dans le tableau I. *Les chiffres marquent la limite de la réaction. Le signe 0 indique l'absence de réaction avec 0,1 cent. cube d'antisérum (hémolyse) ou de sérum normal (précipitation).*

TABLEAU I.

ANTISÉRUM OBTENU avec du tissu de		POUVOIR HÉMOLYTIQUE VIS-A-VIS DES GLOBULES DE				POUVOIR PRÉCIPITANT VIS-A-VIS DES SÉRUMS DE			
		Cheval	Bœuf	Porc	Mouton	Cheval	Bœuf	Porc	Mouton
Cheval.	Sang. . .	10 ⁻³	0	0	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻¹	0	0
	Foie. . .	10 ⁻¹	0	0	10 ⁻¹	10 ⁻²	0	0	0
	Rate. . .	10 ⁻¹	0	0	10 ⁻³	0	0	0	0
Bœuf. .	Sang. . .	0	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²
	Foie. . .	0	10 ⁻¹	0	10 ⁻¹	0	10 ⁻¹	0	0
	Rate. . .	0	10 ⁻²	0	10 ⁻²	0	10 ⁻²	0	10 ⁻¹
Porc. .	Sang. . .	0	0	10 ⁻²	10 ⁻¹	0	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹
	Foie. . .	0	0	10 ⁻¹	10 ⁻¹	0	0	10 ⁻²	0
	Rate. . .	0	0	10 ⁻²	10 ⁻²	0	0	10 ⁻²	0
Mouton	Sang. . .	0	10 ⁻²	0	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	0	10 ⁻²
	Foie. . .	0	0	10 ⁻¹	10 ⁻²	0	0	0	10 ⁻²
	Rate. . .	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	0	10 ⁻¹	0	10 ⁻²

On a ensuite examiné comment se comportaient les anti-sérums à l'égard des extraits alcooliques de tissus homologues (sang, foie, rate) et de tissus hétérologues (muscle, cœur, poumon, cerveau, testicule, estomac ou panse, intestin) de cheval, de bœuf, de porc et de mouton, en employant la méthode de la séroflocculation. Nous avons étudié, parallèlement, l'action des sérums normaux de cheval, de bœuf, de porc, de mouton et, comme témoin des antisérums, du sérum normal de lapin, vis-à-vis de ces divers extraits. Voici la technique suivie.

PRÉPARATION DES EXTRAITS ALCOOLIQUES D'ORGANES. — On débite l'organe frais en petits fragments que l'on soumet à une cuisson de quinze minutes dans l'eau en ébullition. On rejette l'eau de cuisson et on lave les fragments à l'eau bouillante pour les débarrasser des matières grasses fondues. Après refroidissement, on sectionne les morceaux en minces lanières et on porte à l'étuve jusqu'à dessiccation. La matière sèche est broyée au mortier et la poudre obtenue est mise à macérer dans l'acétone, à l'étuve à 37°, pendant trois ou quatre jours, en prenant soin de renouveler l'acétone une, deux ou trois fois, selon la richesse présumée du tissu en matières grasses. On décante alors soigneusement le liquide. Le flacon contenant la poudre est laissé à l'étuve, débouché, pour faire évaporer le restant d'acétone. (La poudre de sang a été préparée en partant de sang défibriné, coagulé par ébullition.)

Pour obtenir l'extrait, on fait macérer la poudre dans de l'alcool à 96°-100°

pendant vingt-quatre heures, à la température ordinaire, en agitant le flacon à plusieurs reprises. On filtre sur papier; il passe une liqueur, citrine ou incolore, tout à fait limpide. Cette liqueur doit être utilisée dans les deux ou trois jours qui suivent sa préparation. [Tenant compte de la teneur variable des tissus en substances lipoides, nous avons employé : 1 partie de poudre pour 6 d'alcool dans la préparation des extraits de foie, de cerveau et de testicule — 1 partie $1/2$ de poudre pour 6 d'alcool dans la préparation des extraits de muscle, de cœur, de poumon, de rate, d'estomac et d'intestin — 3 parties de poudre pour 6 d'alcool dans la préparation des extraits de sang.]

Pour servir aux expériences de floculation, les lipoides de l'extrait alcoolique doivent être mis en suspension colloïdale dans l'eau salée.

PRÉPARATION DES ÉMULSIONS. — On ajoute à 1 volume d'extrait alcoolique $\frac{1}{2}$ volumes d'eau distillée et on laisse le mélange au repos pendant trois à quatre heures; on l'isotonise ensuite par addition d'une solution concentrée de sel marin. (Nous employons une solution de NaCl à 21 p. 100; cette solution est ajoutée au mélange, à raison d'une goutte par centimètre cube, au moyen d'une pipette débitant XX gouttes au centimètre cube.) On étend ensuite progressivement, s'il y a lieu, avec de l'eau physiologique (10 p. 1.000) jusqu'à obtention d'une émulsion légèrement opalescente.

Dans nos expériences, le degré diaphanométrique était réglé par comparaison avec une suspension étalon, obtenue en traitant 20 cent. cubes d'une dilution au $1/200^e$ de sérum de cheval en eau physiologique, par 3 cent. cubes d'une solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100.)

TECHNIQUE DE LA RÉACTION. — On verse, dans une série de tubes à hémolyse, 1 cent. cube de l'émulsion et, à l'aide d'une pipette compte-gouttes, on laisse tomber dans chaque tube des quantités variables de sérum. On bouche les tubes, on les agite pour opérer le mélange et on les porte à l'étuve à 37°. On lit les résultats au bout de vingt-quatre et quarante-huit heures.

Lorsque la réaction est forte, elle commence à se manifester entre la 5^e et la 8^e heure, rarement plus tôt, et elle est généralement complète vers la 15^e-20^e heure. Si la réaction est faible, elle n'apparaît parfois qu'après vingt-quatre heures. Les fortes réactions se traduisent par la formation d'agglomérats floconneux qui restent en suspension dans le milieu tant que les tubes sont à l'étuve (ils se déposent par refroidissement); le liquide s'éclaircit dès le début de la réaction et devient, à la fin, limpide comme une eau de roche. Si la réaction est d'intensité moyenne, les masses floconneuses sont plus abondantes et moins volumineuses; elles flottent dans un liquide transparent. Enfin, quand la réaction est légère, on aperçoit un nombre considérable de très petits flocons uniformément répartis dans le milieu, lequel conserve alors une faible opalescence. Il va sans dire que, lorsque la réaction est négative, l'émulsion ne subit aucun changement. Dans tous les cas, l'interprétation des résultats est facile et ne prête à aucune équivoque.

Dans nos expériences, l'action des sérums et des antisérums a été éprouvée, vis-à-vis de chaque sorte d'émulsion, aux doses de 0,25 cent. cubes (V gouttes) et 0,15 cent. cubes (III gouttes).

Dans les tableaux suivants (II, III, IV et V), nous n'avons consigné que les résultats des essais pratiqués avec 0,25 cent. cubes de sérum, dose qui s'est toujours révélée la plus favorable à la manifestation de la floculation. *Les réactions positives sont notées par le signe +, les réactions négatives par le signe 0. Le nombre de + marque l'intensité de la réaction (+ + +, forte ; + + moyenne ; + légère).*

Les expériences en question mettent en jeu des facteurs très complexes, aussi convient-il, avant de les interpréter, de se rendre compte, si possible, de ce que représente, *in se*, le phénomène de floculation.

Jusqu'ici, la plupart des auteurs ont attribué la floculation qui se produit lorsqu'on met en présence des lipoides organiques et certains sérums, à la précipitation des globulines du sérum (1). Les observations faites au cours des recherches rapportées dans ce travail nous conduisent à penser qu'il s'agit, avant tout, d'une coagulation des micelles lipoidiques de l'émulsion.

Il est tout d'abord à noter que la vitesse de réaction est beaucoup plus lente dans la sérofloculation que dans une séroprécipitation provoquée par un sel de métal lourd ou par un antisérum spécifique. On doit observer aussi que les réactions de floculation sont infiniment plus sensibles aux influences de température que ne le sont les réactions de séroprécipitation.

Le fait que la floculation amène, lorsque la réaction est totale, un éclaircissement parfait du milieu, tandis qu'il persiste une certaine opalescence quand la réaction est incomplète ; — le fait que les flocons restent indéfiniment en suspension dans le liquide, tant que le tube reste à l'étuve, s'il s'agit de sérofloculation, alors que les flocons se sédimentent assez rapidement, même à chaud, dans le cas de séroprécipitation, paraissent tous deux indiquer que les lipoides prennent part à la formation du floculat. Ces constatations n'éclairent cependant pas le point de savoir s'il y a coagulation autonome des micelles du lipotide ou simple entraînement provoqué par la précipitation éventuelle des globulines du sérum. Les expériences suivantes apportent des arguments plus démonstratifs.

On prépare, dans les conditions habituelles, une émulsion d'un extrait alcoolique d'organe (foie de bœuf par exemple) ; on ajoute à 1 cent. cube de cette émulsion, 0 c. c. 25 de sérum de bœuf et on porte à l'étuve. Au bout de vingt-quatre heures, on constate qu'il s'est produit une floculation totale : nombreux et volumineux flocons flottant dans un liquide clair.

Remplaçons, dans cette expérience, l'émulsion d'extrait d'organe par une solution de So^4Cu (concentration 1 p. 2.500). Dès qu'on ajoute le sérum de

(1) Cf. E. WOLLMAN, Les nouvelles méthodes de séro-diagnostic de la syphilis. *Bull. de l'Institut Pasteur*, 48, 15 avril 1920.

TABLEAU II.

NATURE DES SÉRUMS		EXTRAITS D'ORGANES DE CHEVAL										
		Sang	Foie	Rate	Muscle	Cœur	Poumon	Rein	Cerveau	Testicule	Estomac	Intestin
Sérum normal de	Cheval . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bœuf . . .	0	+++	+++	0	0	+++	+++	++	0	0	0
	Porc . . .	0	+++ (4)	0	+++	+++ (4)	++ (1)	0	0	0	0	0
	Mouton . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lapin . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antisérum obtenu avec du tissu de	Cheval.	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie.	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	+++	+	0	+++	+++	0	0	+	+++
	Bœuf . .	Sang.	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
		Foie.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Porc . . .	Sang.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Foie.	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
		Rate.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mouton.	Sang.	0	+++	+	+	+	+++	+	0	+++	+++
		Foie.	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
		Rate.	0	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++

(4) Les réactions ont été négatives avec certains sérum.

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

TABLEAU III.

NATURE DES SÉRUMS		EXTRAITS D'ORGANES DE BŒUF											
		Sang	Foe	Rate	Muscle	Cœur	Poumon	Rein	Cerveau	Testicule	Panseo	Intestin	
Sérum normal de	{ Cheval . Bœuf . . . Porc . . . Mouton . . Lapin . . .	0 + 0 0 0	0 +++ +(1) 0 0	0 +++ 0 0 0	0 ++ +(1) 0 0	0 0 +	0 +++ 0 0 0	0 ++ 0 0 0	0 +(1) 0 0 0	0 +(1) ++ 0 0	0 ++ ++ 0 0	0 + 0 0 0	0 +++ 0 0 0
	Antisérum obtenu avec du tissu de	{ Sang. Cheval . Foie . Rate .	0 0 0 0	0 0 0 0	++ 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
		{ Sang. Bœuf . . Foie . Rate .	0 0 0 0	0 0 0 0	+ + 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
		{ Sang. Porc . . Foie . Rate .	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0
		{ Sang. Mouton . Foie . Rate .	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 ++	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

TABLEAU V.

NATURE DES SÉRUMS	EXTRAITS D'ORGANES DE MOUTON										
	Sang.	Foie	Rate	Muscle	Cœur	Poumon	Rein	Corveau	Testicule	Paque	Intestin
Sérum normal de { Cheval . . . Beuf . . . Porc . . . Mouton . . . Lapin . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	++	++	0	0	++	++	++ (1)	++	0	++
	0	++ (1)	0	++ (1)	++ (1)	+	0	0	+	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antisérum obtenu avec du tissu de { Cheval . . . Beuf . . . Porc . . . Mouton . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum normal de { Cheval . . . Beuf . . . Porc . . . Mouton . . . Lapin . . .	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	0	+	0	0	++	0	0	0	0	0

(1) Les réactions ont été négatives avec certains sérums.

bœuf, il se produit un trouble, puis des flocons apparaissent et se collectent en un seul bloc qui se tasse au fond du tube. C'est là une séroprécipitation typique.

Reprenons maintenant l'émulsion d'extrait d'organe et remplaçons, cette fois, le sérum de bœuf par un égal volume, soit 0 c. c. 25, d'une dilution de HCl (concentration $\frac{N}{30}$). Si on porte à l'étuve, on peut observer, au bout de vingt-quatre heures, qu'il s'est formé une floculation caractéristique : gros flocons isolés en suspension dans un liquide clair. Les apparences sont ici de tous points identiques à celles notées dans l'expérience où se trouvaient mélangés l'émulsion et le sérum de bœuf. Il y a tout lieu de penser que, dans un cas comme dans l'autre, ce sont les lipoides qui ont surtout formé la substance du flocculat.

On peut d'ailleurs se rendre compte que, dans les floculations obtenues avec des sérums normaux ou des antisérums, le flocculat se dissout presque entièrement par addition d'éther, ce qui établit la part prépondérante que les lipoides prennent dans sa formation.

Si après élimination du flocculat on précipite les albumines restant dans le liquide clair, on voit que le précipité formé est un peu moins abondant que celui obtenu, dans les mêmes conditions, avec une dilution de sérum à la concentration du mélange avant floculation. On doit en conclure qu'une faible partie des albumines du sérum a participé à la constitution du flocculat.

La réaction de floculation nous apparaît donc comme une réaction de nature colloïdale. Une fraction du sérum se fixe sur les grains du lipode pour former un complexe lipodeo-albumineux, instable en présence de l'électrolyte NaCl. C'est une coagulation de colloïde par un autre colloïde (1).

Cherchons maintenant à démêler la signification de nos expériences de floculation. La première question à élucider est celle de savoir s'il s'agit de réactions dépendant de l'union d'un antigène et de son anticorps, ou de réactions d'ordre banal.

Considérons, en premier lieu, le cas des sérums normaux.

Les tableaux précédents montrent que, dans les conditions de nos expériences, le sérum de bœuf floccule la plupart des extraits d'organes des différentes espèces, le sérum de porc en floccule seulement quelques-uns, les sérums de cheval, de mouton, de lapin, au contraire, n'en flocculent aucun.

(1) Cette interprétation contient une explication des particularités de la réaction : influence de la température — importance des concentrations des réactifs — mode de préparation de l'émulsion de lipoides (selon que l'on précipite les lipoides de l'extrait en bloc ou par fraction, on obtient une suspension formée de micelles plus ou moins grosses).

Voir J. DUCLAUX, *Les Colloïdes*, Gauthier-Villars et Cie, éditeur, Paris, 1921.

Le fait que le sérum de bœuf floccule indifféremment les extraits de foie, de rate, de poumon, de rein, de cerveau, de testicule, que ceux-ci proviennent du cheval, du porc, du mouton et même du bœuf, se concilie mal avec l'idée d'une réaction spécifique.

Quelle que soit leur provenance, tous les lipoides flocculables par le sérum de bœuf fixent le principe flocculant de ce sérum. Si on laisse, en effet, du sérum de bœuf en contact prolongé avec l'un quelconque de ces lipoides, le sérum se trouve dépouillé de son aptitude à provoquer la flocculation de ce lipotide et, du même coup, celle de tous les autres. C'est ce que va nous montrer l'expérience suivante.

On fait macérer, pendant vingt-quatre heures, 2 grammes de poudre d'organe, épuisée par l'acétone, dans 10 cent. cubes d'alcool à 96°-100°. La liqueur alcoolique, filtrée puis concentrée sous le vide, fournit un résidu pâteux (ayant l'aspect et l'odeur des lécithines). Des résidus lipoidiques de rate de cheval, de rate de bœuf, de cerveau de cheval, de rein de porc, de muscle de mouton, ainsi préparés, sont laissés en contact pendant vingt-quatre heures, à la température du laboratoire, avec 4 cent. cubes de sérum de bœuf chauffé. Les sérums traités, recueillis par filtration sur papier mouillé, sont éprouvés, comparativement avec le sérum originel, sur divers extraits d'organes. Les résultats de ces essais sont inscrits dans le tableau ci-contre (1).

Il découle, de cette expérience, la conclusion que le sérum de bœuf, à l'état normal, possède certains éléments susceptibles de s'unir aux lipoides de la plupart des tissus. Ce sont ces éléments qui, se fixant sur les lipoides à l'état de suspension colloïdale dans l'eau salée, en provoquent la flocculation.

L'aptitude des lipoides à fixer cette fraction active du sérum de bœuf paraît être beaucoup plus en rapport avec la nature anatomique des organes dont ils proviennent qu'avec l'espèce zoologique à laquelle appartiennent ces organes.

Avec le sérum de porc, les conditions qui régissent la flocculation sont très capricieuses. On ne relève, d'ailleurs, aucun parallélisme entre l'activité de ce sérum et celle du sérum de bœuf vis-à-vis des divers extraits.

Au regard des lipoides du foie, le sérum de porc se comporte, à peu de chose près, comme le sérum de bœuf, mais à l'inverse

(1) Les mêmes résultats sont obtenus lorsqu'on traite directement le sérum de bœuf par la poudre d'organe.

NATURE DU SÉRUM	EXTRAIT ALCOOLIQUE DE								
	Rate de cheval	Rate de bœuf	Cerveau de cheval	Rein de porc	Muscle de mouton	Foie de porc	Poumon de cheval	Poumon de mouton	Rate de mouton
Sérum de bœuf original	+++	+++	++	++	0	+++	+++	+++	+++
	+++	+++	0	+	0	+++	+++	+++	+++
Sérum de bœuf traité par des lipoi- des de rate de cheval.	+	0	0	0	0	0	0	+	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoi- des de rate de bœuf.	0	0	0	0	0	0	0	0	+
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoi- des de cerveau de cheval.	+	+	0	0	0	+	0	0	+
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoi- des de rein de porc.	+	+	0	0	0	+	0	0	+
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum de bœuf traité par des lipoi- des de muscles de mouton.	+++	+++	++	++	0	+++	+++	+++	+++
	++	++	0	+	0	+++	+++	++	++

de ce dernier, il se montre souvent actif envers les lipoides du muscle tandis qu'il est inactif, ou presque, à l'égard des lipoides de la rate, du poumon et de l'intestin. On a cependant l'impression que, pour le sérum de porc également, les différences d'activité par rapport aux diverses sortes de lipoides paraissent d'ordre qualitatif plutôt que quantitatif pour ce qui concerne la nature de l'organe, d'ordre quantitatif plutôt que qualitatif en ce qui touche l'espèce animale.

Quant aux sérums de cheval, de mouton et de lapin, ils ne possèdent point, à l'état normal, d'éléments susceptibles de s'allier aux lipoides des tissus (Au moins peut-on dire que si une union de cette sorte a lieu, elle ne donne pas naissance à un complexe instable, dans les conditions de nos expériences).

Il n'est pas sans intérêt de remarquer, en passant, que le sérum humain normal se comporte à l'égard des extraits d'organes, comme un sérum de cheval, de mouton ou de lapin. Par contre, le sérum provenant de certains sujets syphilitiques agit, vis-à-vis des extraits de foie, comme les sérums de bœuf et de porc, et vis-à-vis des extraits de cœur, comme le sérum de bœuf (1). Ici encore, l'affinité que ces sérums ont acquise, du fait de la maladie, pour les lipoides, se manifeste à l'égard des organes dont ces lipoides tirent leur origine, sans distinction de l'espèce animale dont proviennent ces organes.

Il y aurait peut-être lieu d'établir un rapprochement entre l'activité des divers sérums, au point de vue de leur aptitude à flocculer les lipoides, et le degré d'instabilité de leurs albumines. Il est aisé de montrer, en effet, que les globulines du sérum de bœuf sont plus facilement précipitables que celles du sérum de porc, et ces dernières plus que celles des sérums de cheval, de lapin et de mouton.

A 1 cent. cube d'une solution de So^4Cu de concentration 1 p. 2.500, on ajoute 0 c. c. 25 des différents sérums. On constate que le précipité obtenu est abondant avec le sérum de bœuf, léger avec le sérum de porc, nul avec les sérums de cheval, de lapin et de mouton.

[Des expériences très probantes nous permettent cependant d'affirmer que, pour ce qui concerne les sérums des sujets

(1) E. CÉSARI et M. LÉVY-BRUHL, Sur l'activité de divers extraits alcooliques d'organes pouvant être utilisés, en guise d'antigène, dans le séro-diagnostic de la syphilis. *C. R. de la Soc. de Biol.* Séance du 14 janvier 1922.

syphilitiques, il n'y a aucune relation entre le pouvoir flocculant à l'égard des lipoides du cœur et du foie et le degré de précipitabilité de leurs globulines.]

Doit-on assimiler la fraction d'un sérum normal qui joue un rôle actif dans la flocculation à un anticorps naturel dont le lipuide (ou un constituant du lipuide) représenterait l'antigène?

Il faudrait alors admettre que tous les lipoides flocculables par le sérum de bœuf possèdent un élément antigène commun, que tous les lipoides flocculables par le sérum de porc possèdent de leur côté un autre élément antigène commun. Pareille proposition est donc, pour ainsi dire, dépourvue de sens puisqu'elle implique la banalité des antigènes.

Passons au cas des antisérums.

Nous savons que le sérum normal de lapin ne floccule aucun extrait d'organe. Or l'examen des tableaux II et V révèle que les sérums des lapins traités par la rate de cheval, le sang de mouton ou la rate de mouton, possèdent la commune propriété de flocculer les extraits de ces mêmes tissus et, par surcroît, les extraits de la plupart des organes de cheval.

Il ne s'agit plus ici de réactions s'effectuant indifféremment avec des extraits de toutes sortes d'organes, mais bien de réactions électives se produisant seulement pour quelques antisérums et vis-à-vis seulement de quelques extraits.

Étudions particulièrement le sérum antirate de cheval.

Si on laisse en contact du sérum antirate de cheval et des lipoides isolés de la rate de cheval, l'antisérum est rendu inapte à flocculer non seulement les extraits de rate de cheval, de rate de mouton et de sang de mouton, mais aussi les extraits d'organes de cheval qu'il flocculait auparavant. Si on traite, au contraire, le sérum antirate de cheval par des lipoides isolés de la rate de bœuf, l'antisérum conserve ses propriétés. Voici l'expérience qui établit ces deux points.

On prépare, comme il a été dit ci-dessus, des lipoides de rate de cheval et de rate de bœuf. On met en contact, pendant vingt-quatre heures, chaque sorte de lipuide avec 4 cent. cubes de sérum antirate de cheval. Les antisérums ainsi traités, recueillis par filtration sur papier mouillé, sont éprouvés comparativement avec le sérum originel, au point de vue de la flocculation des extraits de rate de cheval, de sang et de rate de mouton et de divers

extraits d'organes de cheval. Les résultats de ces épreuves sont donnés dans le tableau suivant.

NATURE DU SÉRUM	EXTRAIT ALCOOLIQUE DE							
	rate de cheval	sang de mouton	rate de mouton	poumon de cheval	rein de cheval	intestin de cheval	rate de boeuf	
Sérum de lapin, an- tirate de cheval.	c. c. 0,25	+++	++	+	+++	++	+++	0
	0,15	++	+	0	++	++	++	0
Même sérum traité par les lipoides de rate de cheval.	0,25	0	0	0	0	0	0	0
	0,15	0	0	0	0	0	0	0
Même sérum traité par les lipoides de rate de boeuf.	0,25	+++	+	0	+++	++	+++	0
	0,15	++	0	0	++	+	++	0

Il est donc apparu, dans le sérum du lapin inoculé avec du tissu de rate de cheval, des éléments susceptibles de s'unir soit aux lipoides de la rate de cheval, du sang et de la rate de mouton, soit aux lipoides du poumon, du rein, de l'intestin du cheval, en constituant avec eux un complexe colloïdal instable. Les sérums antisang et antirate de mouton doivent contenir des éléments identiques, puisque ces antisérums se comportent de tous points comme le sérum antirate de cheval.

Nous avons également obtenu des antisérums jouissant du même pouvoir floculant que le sérum antirate de cheval en injectant, au lapin, des émulsions d'organes de cheval (poumon, rein) dont les extraits sont floculés par cet antisérum. Nous nous sommes assuré, d'autre part, que les lipoides isolés de ces organes de cheval fixent la fraction active des antisérums au même titre que les lipoides de la rate de cheval.

Il nous paraît inutile de rapporter ici toutes les expériences réalisées, calquées sur les précédentes au point de vue de la technique, et dont les résultats sont exactement superposables, *mutatis mutandis*, à ceux qui sont exposés plus haut.

Pour les exemples choisis, on voit que les tissus susceptibles d'engendrer des antisérums floculants fournissent également des extraits alcooliques floculables. Il existe ici une relation

évidente, directe et croisée; entre la propriété que possèdent ces tissus de provoquer l'apparition, dans le sérum des lapins traités, d'éléments capables de s'unir aux lipoides et la faculté que détiennent, et que détiennent seuls, les lipoides de ces mêmes tissus de fixer ces éléments. Il semble bien, à première vue, qu'il doit s'agir là d'une production d'anticorps déterminée par l'injection d'un antigène. Tout paraît se passer comme si les tissus dont il est question renfermaient un élément antigène commun, lequel serait représenté par leurs lipoides (ou une fraction de ces lipoides), et comme si les divers antisérums, préparés à l'aide de ces tissus, contenaient tous un anticorps identique, représenté par les éléments de l'antisérum fixé par ces lipoides. Dans ce cas, la flocculation, qui est réellement ici une réaction à caractère spécifique, pourrait être considérée comme une conséquence de la fixation de l'anticorps sur l'antigène, et se rapprocherait, par son mécanisme, des réactions de précipitation et d'agglutination.

Nous retrouvons donc, à ce propos, la question depuis longtemps — et toujours vainement — discutée, du rôle antigène des lipoides. Examinons de près cette éventualité.

Nous savons que nos antisérums ont été préparés avec des émulsions d'organes frais, renfermant à coup sûr de multiples éléments antigènes. Ces antisérums doivent donc contenir toute une série d'anticorps, dont quelques-uns nous ont été révélés précédemment par leurs effets hémolytiques ou précipitants (Tableau I).

Par contre, les extraits devant lesquels ces antisérums étaient appelés à réagir *in vitro* ayant été obtenus en partant de tissus chauffés, épuisés par l'eau et l'acétone, puis repris par l'alcool, ne pouvaient recéler tous les éléments antigènes des organes dont ils provenaient. De fait, en raison du traitement mis en œuvre, les extraits alcooliques utilisés ne renferment que les lécithines des tissus, les traces de lipoides et de cholestérine retenues en solution par ces lécithines et aussi, très probablement, des traces de matières protéiques formant avec elles des complexes lipoïdo-albumineux (1), ensemble assez mal défini

(1) G. LINOSSIER, *Les lipoides dans l'infection et dans l'immunité*. J.-B. Baillière et fils, Paris, 1920.

au point de vue chimique, que nous avons désigné et que nous continuerons à désigner sous le nom de lipoides. Les extraits alcooliques, qui, dans les réactions envisagées ici, font virtuellement office d'antigène, ne pouvant contenir que des éléments antigènes liés à ces lipoides, l'anticorps éventuel qui intervient dans la réaction ne peut être que celui qui correspond à ces mêmes lipoides. Or les lipoides isolés d'un organe donnant des extraits alcooliques flocculables paraissent incapables d'engendrer, chez le lapin, un sérum se comportant au point de vue de la flocculation, comme l'antisérum obtenu en utilisant l'organe total. C'est ce que montre l'expérience suivante, choisie parmi plusieurs autres.

Un lapin reçoit, trois jours de suite, en injection intrapéritonéale, une émulsion en eau physiologique de lipoides isolés de la rate de cheval par la méthode précédemment décrite. La quantité totale administrée correspond aux lipoides extractibles contenus dans 70 grammes de rate de cheval à l'état frais. On saigne l'animal six jours après la dernière injection. Son sérum ne floccule ni l'extrait de rate de cheval, ni aucun autre extrait d'organe. (Le pouvoir hémolytique de ce sérum à l'égard des globules rouges de mouton est pour ainsi dire nul.)

La poudre d'organe, privée de ses lipoides par extraction alcoolique, administrée au lapin, en injection intrapéritonéale, dans les mêmes conditions que ci-dessus (la quantité inoculée correspondait à 15 grammes environ de tissu frais), engendre également un antisérum qui ne floccule aucun extrait d'organe et qui est dépourvu, ou presque, d'action hémolytique sur les globules de mouton.

Rappelons que le sérum antirate de cheval qui s'est montré actif dans les expériences de flocculation avait été obtenu avec 5 grammes seulement de tissu frais.

Cette expérience établit indiscutablement que les lipoides ne constituent pas toute la substance antigène de la rate de cheval. Prouve-t-elle que les lipoides ne contiennent aucune trace d'antigène? Nous ne le pensons pas.

Il est connu qu'une quantité infinitésimale d'antigène peut suffire pour déclencher *in vitro* une réaction spécifique en présence d'un excès d'anticorps. C'est ainsi, par exemple, qu'en faisant agir un cent millième de centimètre cube de sérum de cheval sur 1 centimètre cube de sérum de lapin antisérum de cheval, on obtient une précipitation très nette. Mais pour obtenir cet antisérum, il a fallu injecter à l'animal producteur 9 centimètres cubes au moins de sérum de cheval, c'est-à-dire une quantité près d'un million de fois supérieure à celle qui se

montre suffisante, *in vitro*, pour déterminer la réaction spécifique. Il n'est guère besoin de souligner que, dans l'expérience précédente, l'écart était loin d'atteindre cet ordre de grandeur.

Si donc il paraît bien démontré que les lipoides à eux seuls ne constituent pas tout l'antigène, rien n'empêche de supposer, tout au moins, qu'ils en renferment des traces. Dans tous les cas, c'est là une hypothèse nécessaire, si on veut raccorder les phénomènes de flocculation par les antisérums aux réactions d'anticorps et d'antigènes qui nous sont familières.

Cette conception ne pourra d'ailleurs s'adapter à l'explication des faits observés, ainsi qu'on va s'en rendre compte, que si elle est complétée par une série d'hypothèses moins solidement étayées encore que la première.

Nous savons que la fonction antigène est presque exclusivement attachée à des substances protéiques. Nous venons de voir que, contrairement aux tissus frais, les tissus chauffés ne possèdent plus de pouvoir antipoiétique. Comme la chaleur n'a pu altérer que les matériaux albuminoïdes, il est tout naturel de rattacher la faculté antigène des tissus à des constituants de cette nature. Puisqu'il est reconnu, d'autre part, que les lipoides des tissus contractent avec les albuminoïdes qui les accompagnent des alliages insécables, il paraît logique d'attribuer aux matières protéiques des tissus incorporées aux lipoides le rôle antigène que, par convention, nous voulons assigner à ces derniers. Mais pour arriver à concilier l'abolition de la faculté antipoiétique des tissus par l'effet du chauffage et la présence d'antigène dans les extraits alcooliques provenant de tissus chauffés, on est obligé de supposer que la fonction antigène des albuminoïdes doit se trouver protégée contre l'action destructrice de la coagulation lorsque ces substances sont alliées aux lipoides (1).

Si on pousse plus loin l'analyse des faits, la théorie va

(1) En ajoutant de l'albumine *acidifiée* à une émulsion de lécithine, A. Mayer et F. Terroine obtiennent un précipité formé par un complexe lécithine-albumine. Ce complexe est soluble dans l'alcool éthylique et insoluble dans l'acétone. Tandis que la lécithine, dans l'émulsion, se comporte comme un colloïde *négalif*, le complexe lécithine-albumine se comporte comme un colloïde *positif*. (André MAYER et E. F. TERROINE, Recherches sur les complexes colloïdaux d'albuminoïdes et de lipoides. C. R. de la Soc. de Biol. séance du 9 mars 1907, 62, p. 398.)

s'enrichir d'une nouvelle hypothèse. On constate, en effet, que des tissus capables d'engendrer, chez le lapin, des antisérums très puissants (c'est le cas pour la rate de mouton) fournissent des extraits alcooliques relativement peu floculables par ces derniers. Et ceci conduit à supposer que l'antigène, selon la nature des organes qui le renferment, se trouve réparti en proportions variables entre les albuminoïdes libres et les albuminoïdes qui font corps avec les lipoides.

Encore n'a-t-il été tenu compte, jusqu'ici, que des faits les plus favorables à l'hypothèse en discussion, ceux où l'on pouvait soupçonner, à la rigueur, l'intervention de l'antigène F. Si on cherche à étendre cette interprétation des phénomènes à l'ensemble des réactions positives et négatives notées dans les expériences, on se heurte à des objections presque insurmontables. La théorie devrait, en effet, pouvoir justifier l'absence de réaction, si fréquemment observée, entre un antisérum et l'extrait alcoolique de l'organe qui a servi à obtenir cet antisérum. On pourrait, sans doute, expliquer le fait par l'existence possible, dans l'organisme du lapin, de l'antigène en cause. Dans cette occurrence, l'antisérum serait inactif parce que le lapin peut se montrer incapable de produire un anticorps dirigé contre un de ses propres antigènes. Mais cette raison ne peut être valablement retenue que si l'antisérum ne floclule aucun extrait d'organe et si l'extrait d'organe correspondant n'est floclulé par aucun autre antisérum, car, dans un cas comme dans l'autre, toute réaction positive présuppose, dans notre hypothèse, l'existence d'un antigène lipoidique.

Comment expliquer, par exemple, que l'extrait alcoolique de rate de bœuf, floclulé par le sérum antisang de cheval et le sérum antirate de mouton, ne soit pas floclulé par le sérum antirate de bœuf? Comment expliquer que l'extrait de rate de porc, floclulé par le sérum antirate de mouton et le sérum anti-foie de bœuf, ne le soit point par le sérum antirate de porc? Admettons, pour un instant, que ces deux séries d'organes contiennent chacune des éléments antigènes communs. Dira-t-on que les uns ne contiennent cet antigène qu'à l'état libre et donnent par conséquent des antisérums actifs et des extraits alcooliques inactifs? Dira-t-on que les autres ne contiennent que l'antigène à l'état de combinaison lipoidique et donnent

par conséquent des antisérums inactifs et des extraits alcooliques actifs? C'est peu vraisemblable.

Sans insister davantage, on voit que, malgré l'appui des nombreuses conditions hypothétiques invoquées, il n'est pas permis d'attribuer légitimement aux réactions de floculation par les antisérums la signification d'une réaction d'anticorps et d'antigène. C'est un point qui, en raison de son importance théorique, méritait d'être mis en relief.

Abandonnant donc l'explication commode qui consiste à mettre sur le compte d'un antigène éventuel n'importe quelle manifestation objective des propriétés d'un antisérum, nous ne retiendrons que les faits positifs qui ressortent de nos expériences. En dehors de toute interprétation théorique, on peut dire que les réactions de floculation obtenues avec les antisérums d'organes révèlent certaines relations entre les lipoides de divers tissus.

L'action similaire exercée par les sérums antirate de cheval, antisang et antirate de mouton sur les extraits alcooliques de rate, de poumon, de rein, de cœur, de muscle, d'estomac et d'intestin de cheval, de sang et de rate de mouton, établit qu'il existe une parenté entre les lipoides de tous ces tissus.

De même, les réactions positives obtenues avec les sérums antisang de cheval, antifoie et antisang de bœuf, agissant sur les extraits alcooliques de rate de bœuf et de rate de porc, dénoncent une certaine parenté entre les lipoides de ces deux organes.

Ce que nous avons dit sur le mécanisme du phénomène de la floculation permet d'entrevoir qu'il peut s'agir tout simplement de propriétés physico-chimiques communes aux suspensions colloïdales des lipoides auxquels nous venons de reconnaître des liens de parenté.

En résumé, la floculation peut être considérée comme un test — fort délicat à manier d'ailleurs — qui révèle une affinité entre certains éléments des sérums et certains groupes de lipoides organiques.

Du côté des sérums, cette affinité est *naturelle* (sérums normaux de bœuf et de porc), *acquise* (sérums des individus atteints de syphilis) ou *provoquée* (sérums de lapins traités à l'aide de certains organes) et, dans ce dernier cas, elle peut

être provoquée électivement, à l'égard des lipoides de quelques tissus, au moyen des tissus mêmes auxquels appartiennent ces lipoides.

On ne pourra connaître, semble-t-il, le déterminisme de ces affinités que par des recherches d'ordre physico-chimique portant à la fois sur les sérums et les émulsions colloïdales des lipoides organiques.

ADDENDUM

Application à la révélation des fraudes sur les viandes et les produits de charcuterie.

En raison de l'anéantissement des propriétés antigènes des substances protéiques par la chaleur, ni la séro-précipitation, ni la déviation du complément, pratiquées au moyen des sérums et antisérums, ne peuvent servir à la diagnose zoologique des viandes cuites. Aussi, dans la pratique, les applications des procédés d'Uhlenhuth et de Fally sont-elles restreintes à la détermination de la nature des viandes crues (salaisons, saucissons secs). Jusqu'en ces derniers temps, les services de la répression des fraudes ne disposaient d'aucun moyen expérimental pour reconnaître la nature des viandes entrant dans la composition des mets cuisinés ou la confection des produits de charcuterie qui subissent l'action de la chaleur au cours de leur préparation (conserves de viandes, pâtés de viande, rillettes, saucissons cuits, saucisses fumées, andouilles, andouillettes). Or, ce sont justement ceux-là qui se prêtent le mieux aux tromperies et aux falsifications.

La fraude à laquelle donne le plus souvent lieu le commerce de ces denrées consiste à vendre, comme produits confectionnés avec de la viande ou des organes de bœuf et de porc, des produits composés totalement ou en partie de viande ou d'organes de cheval, dont la qualité est inférieure et le prix moins élevé.

Les données établies par les recherches qui précèdent montrent la possibilité de révéler la présence de la viande et des organes de cheval (à l'exception du foie et du cerveau) dans des mets préparés ou des produits de charcuterie soumis à la

cuisson. Théoriquement, il devrait, semble-t-il, suffire de récupérer les lipoides de ces produits par extraction alcoolique et de rechercher la manifestation de leur affinité spécifique, au moyen de la méthode de la floculation, en présence d'un sérum de lapin antirate de cheval, antisang ou antirate de mouton. Pratiquement, le problème est un peu plus compliqué.

Déjà Sachs et Georgi (1) ont fait connaître une méthode d'identification de la viande de cheval cuite, basée sur les propriétés de l'antigène F. Leur procédé consiste à fixer l'anticorps hémolytique d'un sérum de lapin, ayant reçu des injections répétées de globules rouges de mouton, sur la viande à expertiser. Après un contact suffisant, on titre le pouvoir hémolytique de l'antisérum. Ce pouvoir est annihilé ou notablement affaibli s'il s'agissait de viande de cheval; il n'est pas diminué s'il s'agissait de viande de bœuf, de porc ou de mouton.

Guth (2) a cherché à mettre à profit, dans le même but, la méthode de floculation. Toutefois, dans l'impossibilité où s'est trouvé cet auteur d'obtenir régulièrement, avec la viande de cheval cuite, des extraits alcooliques floculables, il a eu recours à un procédé indirect. La technique conseillée par Guth comporte la fixation de l'anticorps d'un sérum de lapin antirein de cobaye ou antihématies de mouton sur le résidu sec d'un extrait alcoolique de la viande dont il s'agit de déterminer la nature. L'antisérum est ensuite éprouvé, au point de vue de la floculation, en présence d'un extrait alcoolique de rein de cobaye. La floculation doit avoir lieu si la viande expertisée est de la viande de bœuf, de porc ou de mouton; elle ne doit pas se produire si c'est de la viande de cheval.

Personnellement, de nombreux essais, effectués avec toutes sortes de produits, nous ont montré qu'il était plus ou moins facile de dépister les lipoides des organes de cheval suivant la nature des tissus entrant dans la composition de la denrée examinée. On peut obtenir, directement, des floculations extrêmement nettes lorsqu'on opère sur les extraits alcooliques de produits contenant des intestins de cheval (andouilles fumées, andouillettes) alors même que ceux-ci n'entrent que pour un tiers dans leur composition. Les résultats sont moins

(1) SACHS et GEORGI, *Zeitschrift f. Immunitätsf.*, 1914, 21, p. 342.

(2) GUTH, *Zeitschrift f. Immunitätsf.*, 1920, 30, p. 517.

significatifs, et peuvent prêter à équivoque, lorsqu'on expérimente avec les extraits alcooliques de produits uniquement composés de viande (saucissons cuits, saucisses fumées). Dans ce cas, il convient de contrôler l'épreuve par l'emploi d'une méthode indirecte.

Nous ferons connaître ultérieurement, avec les détails qui ne pouvaient trouver place ici, les recherches poursuivies en vue des applications pratiques de la méthode de floculation à la répression des fraudes et les techniques un peu spéciales que nous avons adoptées dans ce but.

(Travail du laboratoire de M. Nicolle. Institut Pasteur.)

Le Gérant : G. MASSON.

